



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

Análisis morfo-funcional de la relación simbiótica esponja-cianobacteria
en la distribución vertical de *Xestospongia muta*.

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS
(BIOLOGÍA MARINA)

PRESENTA:

BIOL. MIGUEL ANGEL PEREZ CASTRO

DIRECTORA DE TESIS:

Dra. Susana Enríquez Domínguez
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA
(UNIDAD ACADÉMICA DE SISTEMAS ARRECIFALES DE PUERTO MORELOS)

COMITÉ TUTORAL:

Dra. Luisa I. Falcón Álvarez
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO
(INSTITUTO DE ECOLOGÍA)

Dr. José Luis Carballo
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA
(UNIDAD ACADÉMICA DE MAZATLÁN)

Dr. Roberto Iglesias Prieto
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA
(UNIDAD ACADÉMICA DE SISTEMAS ARRECIFALES DE PUERTO MORELOS)

Dr. Eugenio Méndez
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGIA

Puerto Morelos, Quintana Roo, octubre 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

“No hay nada en la mente que no provenga de los sentidos”

Aristoteles

A mi hermana Vero

A Susana

Y a Gaby

Agradecimientos

Mi más sincero agradecimiento a la Dra. Susana Enríquez por aceptar mi propuesta de trabajo de tesis y permitirme desarrollarla y culminarla en este proyecto de maestría, gracias ante todo por guiarlo y re direccionarlo en los momentos críticos... por todo tu apoyo y cariño.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, y a la Unidad Académica de Sistemas Arrecifales, quien me dio alojamiento y un espacio agradable para trabajar. Así mismo agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por otorgarme la beca para realizar mis estudios de maestría. A la Comisión Nacional de Áreas Naturales protegidas (CONANP) de Cozumel, por la hospitalidad y el apoyo con los buceos tan placenteros, especialmente a Nallely y Blanca.

A mi comité tutorial, por sus opiniones y sugerencias para mejorar este trabajo. Al Dr. Roberto Iglesias por sus enseñanzas y contar con su equipo de laboratorio. También agradezco a Lorenzo, quien me ayudo desde el principio, por compartir sus datos y por estar atento en el desarrollo del proyecto.

Al capitán Amauri, por ser pieza clave para recolectar mis muestras y por confiar en mí. Igualmente a Gabriel por su ayuda para reparar mi computadora.

A Fernando y a Edgar porque a pesar del susto y los enojos estuvieron ante todo dispuestos a apoyarme y a auxiliarme.

A Gaby, por tu inmenso apoyo durante este trabajo, por tu amor que fue y es fuerza fundamental.

A mis compañeros y amigos: Tatiana, Serguei, Luis, Nancy, Pepe, Wendo, Inti, Blanca, Raul y Ali por su ayuda en mi trabajo de campo o de laboratorio. Especialmente a Esmeralda por su apoyo en el curso de buceo técnico, en el laboratorio y en mi escrito.

De manera especial agradezco a Tim, Román y Nadine, por enseñarme técnicas de laboratorio y ayudarme a resolver dudas, por los consejos y este tiempo compartido ...gracias amigos!, Gracias Nadine por tus revisiones.

A todos los demás que forman parte de la UASA, porque en algún momento compartimos juegos y risas. A Rogelio y Rosi por ayudarme a resolver algunas dudas estadísticas y por compartir un buen rato al lado del mar.

A Wiebke, Nadine y Ricardo por los chocolates...

A mis padres por su educación y amor incondicional. A mis tíos por todo su apoyo y cariño. A mis abuelos que me están guiando y cuidando.

Gracias a todos ustedes fue posible realizar y terminar esta tesis!

Índice

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | Introducción | 1 |
| 2 | Objetivo general | 6 |
| 2.1 | Objetivos particulares | 6 |
| 3 | Hipótesis..... | 6 |
| 4 | Materiales y Métodos | 7 |
| 4.1 | Área de estudio | 7 |
| 4.2 | Fotobiología de <i>Xestospongia muta</i> | 8 |
| 4.2.1 | Descripción del tejido fotosintético | 8 |
| 4.2.2 | Absorción de luz: determinación de las propiedades ópticas..... | 10 |
| 4.2.3 | Caracterización fisiológica..... | 12 |
| 4.3 | Análisis morfo-funcional de <i>X. muta</i> | 13 |
| 4.3.1 | Modelaje tridimensional | 13 |
| 4.3.2 | Modelos teóricos del balance heterotrofia-fototrofia en base a morfología reales | 13 |
| 4.4 | Análisis morfológico de <i>Xestospongia muta</i> | 14 |
| 4.5 | Análisis estadístico de datos | 14 |
| 5 | Resultados | 15 |
| 5.1 | Fotobiología de <i>Xestospongia muta</i> | 15 |
| 5.1.1 | Descripción del tejido fotosintético de <i>X. muta</i> | 15 |
| 5.1.2 | Propiedades ópticas de <i>X. muta</i> | 17 |
| 5.1.3 | Análisis preliminar al blanqueamiento..... | 19 |
| 5.1.4 | Efecto de la profundidad en la absorción de luz y en la densidad de simbiontes | 24 |
| 5.1.5 | Caracterización fisiológica..... | 25 |
| 5.1.6 | Respuesta fotosintética a la luz..... | 26 |
| 5.2 | Análisis morfo-funcional de <i>X. muta</i> | 28 |
| 5.2.1 | Modelo teórico del balance heterotrofia-fototrofia en base a morfologías reales..... | 29 |
| 5.3 | Análisis morfológico de <i>X. muta</i> | 32 |
| 5.3.1 | Descripción de la variabilidad morfológica natural de <i>X. muta</i> | 32 |
| 5.3.2 | Análisis alométrico | 33 |
| 5.4 | Distribución y abundancia de <i>Xestospongia muta</i> en los arrecifes de Cozumel..... | 36 |
| 6 | Discusión | 37 |
| 6.1 | Fotobiología en <i>Xestospongia muta</i> | 37 |
| 6.1.1 | Análisis del efecto de la profundidad..... | 40 |
| 6.2 | Análisis Morfo-funcional de <i>Xestospongia muta</i> | 42 |
| 7 | Conclusiones..... | 46 |
| 8 | REFERENCIAS..... | 47 |
| | ANEXO I | 51 |
| | ANEXO II | 52 |
| | ANEXO III | 53 |

Índice de Figuras y Tablas

| | |
|--|----|
| Fig. 1. Área de estudio de <i>Xestospongia muta</i> en Puerto Morelos y Cozumel, Quintana Roo, México..... | 7 |
| Fig. 2. Extracción de células y pigmentos de los tejidos fotosintéticos de <i>X.muta</i> . A) Segmento de esponja (tejido fotosintético), B) Homogenización del tejido fotosintético, C) Extracción de cianobacterias y enjuague del tejido, D) Ficobiliproteínas extraídas..... | 9 |
| Fig. 3. Parámetros morfométricos tomados <i>in situ</i> de <i>X. muta</i> : Altura de la esponja (A), diámetro del ósculo (D), altura del atrio (Aa), diámetro inferior del atrio (Da), perímetro basal (Pb)..... | 13 |
| Fig. 4. Tejido fotosintético de <i>X. muta</i> en la cara exterior y en la cara interior del atrio. | 15 |
| Fig. 5. Comparación de la cara interna y externa de la esponja. A) Densidad de cianobacterias y clorofila <i>a</i> , B) Densidad de ficobiliproteínas: APC-aloficocianina, PC-ficocianina y PE-ficoeritrina, C) Grosor del tejido fotosintético, D) Porcentaje de componente orgánico e inorgánico. | 16 |
| Fig. 6. A) Espectros de absorción del tejido vivo de <i>X. muta</i> . Línea negra cara exterior, línea gris cara interior y línea punteada cianobacterias simbiotes. B) Espectros de transmisión en tejido fotosintético intacto de 8 mm de espesor (línea negra), en tejidos blanqueados de 7.5 mm (línea gris oscura) y 9.5 mm (línea punteada).C) Transmitancia del tejido fotosintético en función de su grosor. D) Esquema de la medición de transmitancia usando la esfera integradora de luz..... | 17 |
| Fig. 7. Propiedades ópticas de <i>X. muta</i> . A) Espectros de reflectancia del tejido intacto de la cara exterior e interior y B) Espectros de la absorción estimada ($D=\log[1/R]$). | 18 |
| Fig. 8. Características ópticas de la cara interior y exterior. A) Absorptancia y densidad de clorofila <i>a</i> del tejido fotosintético de la cara interior y exterior de <i>X. muta</i> . B) Coeficiente específico de absorción..... | 19 |
| Fig. 9. Diferencias entre tejidos fotosintéticos sanos y blanqueados. A) Densidad de clorofila <i>a</i> , B) Densidad de cianobacterias de la cara interior, C) Absorptancias, D) Relación de la absorptancias en función de la densidad de Chl <i>a</i> de <i>X. muta</i> tanto en muestras blanqueadas (círculo blancos) como sanas (círculos oscuros)..... | 20 |
| Fig. 10. Descripción de la variación de $a^*_{Chl a}$ en función de la variación de la sección transversal de pigmentos (densidad de Chl <i>a</i> en $mg\ m^{-2}$). | 21 |
| Fig. 11. A) Variabilidad en el grosor del tejido fotosintético de <i>X. muta</i> entre muestras de esponjas sanas (gris) y blanqueadas (rayas) tanto en la cara exterior como en la interior. B) Asociación lineal entre $a^*_{Chl a}$ y el grosor del tejido fotosintético de <i>X. muta</i> | 22 |
| Fig. 12. A) Variabilidad de la eficiencia fotoquímica efectiva (F_v/F_m') en el tejido fotosintético de la esponjas sanas y blanqueadas (enfermas).El gráfico describe la mediana y los cuartiles 25% y 75% (caja), además de la | |

| | |
|--|----|
| variabilidad contenida entre los límites de confianza del 5% y el 95% (barras). B) Relación de la variabilidad en Fv/Fm de las cianobacterias en función de los cambios observados en el grosor del tejido fotosintético..... | 23 |
| Fig. 13. A) Espectros de absorción de luz de dos individuos de <i>X. muta</i> , uno a 40 m (línea continua) y otro a 17 m (línea punteada). B) Densidad de cianobacterias en individuos de <i>X. muta</i> a 40 m y 17 m de profundidad en la cara interior (barras gris claro) y exterior (barras gris oscuro). | 24 |
| Fig. 14. Variación de la eficiencia fotoquímica efectiva $\Delta F/F_m'$ entre la cara interior del atrio y la cara exterior a distintas profundidades: A) a 9m, B) a 20m, C) a 25m y D) a 25 m presentando blanqueamiento..... | 25 |
| Fig. 15. Curvas de fotosíntesis-irradiancia de <i>X. muta</i> ; círculos negros-cara exterior, rombos blancos-cara interior..... | 26 |
| Fig. 16. Parámetros fotosintéticos de <i>X. muta</i> . A) Eficiencia fotosintética (α , $\mu\text{mol O}_2$ / μmol quanta y B) Irradiancia de saturación (E_k). | 27 |
| Fig. 17. Variación de la fotosíntesis máxima y respiración en organismos colectados a 17 m en el arrecife de Puerto Morelos. | 27 |
| Fig. 18. Modelos tridimensionales de individuos de <i>X. muta</i> | 28 |
| Fig. 19. Relación superficie/volumen en los morfotipos de <i>X. muta</i> (línea punteada). Las barras representan el volumen (gris oscuro) y el área (gris claro) de cada morfotipo. | 29 |
| Fig. 20. Balance heterotrofia/fototrofia en morfotipo "A" (A) y morfotipo "D" (B)..... | 30 |
| Fig. 21. A) Modelos teóricos de cambio de la relación superficie/volumen. B) Balance trófico de <i>X. muta</i> para cada morfotipo en función del tamaño de los organismos. Las barras representan los balances estimados de los organismos colectados en el arrecife de Puerto Morelos, morfotipos "reales"..... | 31 |
| Fig. 22. A) Balance heterotrofia/fototrofia incorporando los cónulos de la superficie externa. B) Modelo del morfotipo "B"..... | 32 |
| Fig. 23. Variación de los parámetros morfométricos de <i>X. muta</i> | 33 |
| Fig. 24. Relación alométrica de la altura y del diámetro mayor del ósculo de <i>X. muta</i> | 33 |
| Fig. 25. Esquema del cálculo del Índice morfométrico I.M. (D=Diámetro del ósculo, A=Altura de la esponja)..... | 34 |
| Fig. 26. Análisis alométrico de la relación entre los cambios en el tamaño y forma (I.M.) de la esponja <i>X. muta</i> . Círculos blancos, esponjas situadas entre 7 y 19m de profundidad; círculos negros, esponjas creciendo entre 20 y 45 m de profundidad. | 35 |
| Fig. 27. Variación de la altura y diámetro mayor del ósculo de <i>X. muta</i> en poblaciones creciendo en Cozumel en dos clases de profundidad (someras = 7-19.9 m y profundas = 20-45 m)..... | 35 |
| Fig. 28. A) Abundancia relativa de <i>X. muta</i> en un gradiente de profundidad y B) entre distintos arrecifes de Cozumel (ver Tabla III)..... | 36 |
| Fig. 29. Comparación del coeficiente específico de absorción en distintos organismos fotosintéticos. | 38 |

| | |
|---|----|
| Fig. 30. Modelo de crecimiento de <i>X. muta</i> | 43 |
| Fig. 31. Experimento realizado con láser sobre el tejido fotosintético de <i>X. muta</i> . A) Tamaño del puntero del láser en una superficie negra y B- D) Fotografías mostrando la dispersión múltiple de la luz causada por el esqueleto de <i>X. muta</i> . C y D) Observaciones en el microscopio estereoscópico a 1 y 2.5 cm aproximados del punto incidente. | 51 |
| Fig. 32. Tejido fotosintético de <i>X. muta</i> . A) Arreglo de las espículas del esqueleto y B) Cianobacterias inmersas en las células de <i>X. muta</i> (CX). | 51 |
| Fig. 33. Fotografías de <i>X. muta</i> con diferentes grados de blanqueamiento (la zona de cónulos suele ser la más afectada) | 52 |
| Fig. 34. Fotografías tejidos sanos y blanqueados de <i>X. muta</i> | 52 |
| Fig. 35. Morfotipos con sus respectivos ejemplares en fotografía y modelos tridimensionales. | 53 |
| Fig. 36. Forma de cálculo del área y volumen del organismo entero, en morfotipo B y D. | 54 |
| Tabla I. Área y volumen de los morfotipos de <i>X. muta</i> | 28 |
| Tabla II. Área y volumen de los morfotipos de <i>X. muta</i> | 31 |
| Tabla III. Abundancia relativa de <i>X. muta</i> en los arrecifes de Cozumel. * El arrecife Chankanab no se muestra en la gráfica por ausencia de comparación en profundidad | 36 |

Análisis morfo-funcional de la relación simbiótica esponja-cianobacteria en la distribución vertical de *Xestospongia muta*.

Resumen

Xestospongia muta es una esponja común en los arrecifes del Caribe dónde juega un papel importante como fuente de carbono y nitrógeno inorgánico disuelto al filtrar grandes cantidades de agua, y como remineralizador al establecer relaciones mutualistas con microorganismos. Una de estas relaciones es una simbiosis obligada con cianobacterias. En este trabajo se analizó el papel de la simbiosis esponja-cianobacteria en el metabolismo trófico de *X. muta* y su relación con la variabilidad morfológica y fisiológica que se observa en esta esponja, una especie muy longeva y que puede alcanzar grandes tallas. Para ello se midieron esponjas *in situ* a distinta profundidad y se extrajeron muestras para determinar su fotobiología. Se encontró que estos organismos en conjunto son extraordinariamente eficientes para absorber la luz, gracias a la dispersión múltiple y a una buena transmisión de la luz favorecidas por las espículas del esqueleto de la esponja; así como las cualidades del aparato fotosintético de los simbioses, los cuales presentan además una gran eficiencia cuántica, cercana al mínimo teórico de la fotosíntesis. Por otro lado se determinaron 3 morfotipos básicos de *X. muta* (cono, barril y copa), los cuales presentan diferencias notables en la relación superficie/volumen, reflejados en los balances de heterotrofía/fototrofía. En conclusión *X. muta* es mixotrófica, y la contribución de la simbiosis a su crecimiento y ajuste ambiental se observa en los cambios de forma (barril y copa), ya que afectan fuertemente al balance heterotrofía-fototrofía del organismo. Además la alta eficiencia con la que absorbe y utiliza la luz, explica en parte su menor abundancia en zonas someras, y también su amplia distribución a lo largo de la zona fótica.

1 Introducción

Las esponjas son un componente importante y altamente diverso de las comunidades bénticas marinas. Estos organismos pertenecen al grupo de los animales multicelulares más primitivos (filum Porifera) que aparecieron en el precámbrico hace aproximadamente 700 millones de años. Durante los subsecuentes periodos de la era Paleozoica fueron los principales constructores de arrecifes (Hooper y Van Soest, 2002) y a pesar de que fueron posteriormente sustituidos por otros grupos de invertebrados como los Cnidarios, hasta la fecha continúan siendo elementos importantes de los ecosistemas arrecifales. Una parte importante de tal éxito ecológico y evolutivo se debe posiblemente a las íntimas asociaciones que establecen con simbiontes microbianos que según algunas evidencias comenzaron hace 600 m.a. (Wilkinson, 1984). Dada la posición basal de las esponjas en el árbol filogenético de los metazoarios, presumiblemente resultan ser los más antiguos animales con asociaciones mutualistas con microorganismos (Taylor *et al.*, 2007).

En esencia, una esponja es una agrupación de células que funcionan de forma conjunta y organizada alrededor de un sistema de poros, canales, y cámaras por donde se alimentan y excretan mediante la filtración y el bombeo de agua (Wilkinson, 1978). Esta forma de alimentación y excreción ayuda a retirar hasta el 90% de las bacterias y entre el 23 y el 63% de los virus que hay en el agua (Carballo *et al.*, 2008). Por tanto, las esponjas son fundamentales para mantener las condiciones de la columna de agua pero también tienen el potencial de alterarla, así como de participar en procesos biogeoquímicos costeros claves a través de su capacidad de filtración y de modificación del material en suspensión (p.ej., digestión-mineralización de materia orgánica y/o excreción de metabolitos secundarios) (Díaz y Rützler, 2001). Si bien la heterotrofia es la forma común del metabolismo del carbono en el filum Porifera, las esponjas, particularmente aquellas de regiones tropicales, también han desarrollado formas de vida fototrófica gracias al establecimiento de relaciones mutualistas con microorganismos fotosintéticos, tales como las cianobacterias (Taylor *et al.*, 2007).

Actualmente las esponjas son un componente importante de las comunidades arrecifales coralinas ya que cumplen funciones claves a través de sus interacciones con la columna de agua y con el ciclo de nutrientes; además juegan un papel muy importante en bioerosión y también contribuyen a la producción primaria como resultado de sus asociaciones simbióticas con microbios. Son en definitiva importantes proveedores de

alimento y hábitat para una amplia gama de organismos (Díaz y Rützler, 2001). Las especies de esponjas que establecen asociaciones con simbioses fotosintéticas ocupan un nicho ecológico similar a los corales escleractínios, sin embargo, su distribución en profundidad es más extensa y además son capaces de establecer y mantener una variedad más amplia de relaciones simbióticas (Usher, 2008).

Las cianobacterias suelen ser el grupo más importante de simbioses fotosintéticas en las esponjas. Estos simbioses les proporcionan los fotosintetatos en forma de glicerol y fosfato orgánico (Wilkinson, 1979), aportando más del 50% de las demandas energéticas y hasta el 80% de sus requerimientos de carbono (Wilkinson, 1983; Cheshire *et al.*, 1997). Sin embargo, algunas cianobacterias también pueden beneficiar a la esponja a través de la fijación del nitrógeno atmosférico y de metabolitos secundarios que funcionan como mecanismos de defensa (Sara *et al.*, 1998). Estos posibles beneficios que obtienen las esponjas de las cianobacterias explicarían el incremento de sus tasas de crecimiento y habilidad competitiva (Erwin y Thacker, 2008). Por su parte, las esponjas les proporcionan a las cianobacterias resguardo y nutrientes esenciales que son productos de su metabolismo (Wilkinson y Fay, 1979).

Aunque las cianobacterias pueden abarcar del 25 al 50% del volumen celular de la esponja (Rützler, 1990), se conoce poco todavía acerca del intercambio metabólico y de las interacciones ecológicas y fisiológicas entre las esponjas y estos simbioses (Taylor *et al.*, 2007). Menos se sabe las implicaciones que tiene su morfología en estas interacciones.

Entre los estudios fisiológicos destacan los realizados por Wilkinson y colegas (Wilkinson, 1983; Wilkinson y Trott, 1985), quienes clasificaron en dos tipos a las cianoesponjas: las "Fotótrofas" y las "Mixotróficas". Las fotótrofas se caracterizan por tener mayores relaciones superficie/volumen, reflejadas también en una relación fotosíntesis/respiración (P:R) mayor a 1.5, por lo que la mayoría de sus requerimientos energéticos son satisfechos por la fotosíntesis de sus simbioses. Por otro lado, las "mixotróficas", tienen una razón superficie/volumen menor y dependen del alimento heterotrófico para satisfacer más de la mitad de sus demandas energéticas. En estos y otros estudios se destaca el papel de morfologías planas en la fisiología de las esponjas fototróficas al optimizar la recepción y colecta de la luz por sus simbioses fotosintéticos (Cheshire *et al.*, 1997; Sara *et al.*, 1998), lo que confirma el importante papel regulador de la forma de la estructura fotosintética y la luz en el metabolismo fotosintético para regular la autosombra de los pigmentos (Enríquez *et al.*, 1996). Entre los pocos estudios morfo-funcionales, se

encuentra el de Brümer *et al.* (2008), que señalan y demuestran la función que tienen las espículas de sílice en forma de embudo de la esponja marina *Tethya aurantium* para transmitir eficientemente la luz hacia el interior de la esponja, donde se han encontrado organismos fotosintéticos.

Por otro lado, la habilidad de las cianobacterias para fotosintetizar a muy bajas irradiancias (1% de la luz en superficie) permite a estos simbioses crecer exitosamente a través de la matriz de algunas cianoesponjas y permite a la esponja hospedera utilizar un amplio rango de campos lumínicos (Usher, 2008). La máxima profundidad a la cual las cianoesponjas son capaces de sobrevivir no se conoce con exactitud ya que estos estudios han recibido hasta la fecha poca atención. Sin embargo, Wilkinson y Vacelet (1979) han reportado la presencia de la cianoesponja *Chondrilla nucula* a 55 m y Usher (2008) ha encontrado cianobacterias filamentosas en otra cianoesponja, *Geodia sp.* a 82 m en Ningaloom Australia. Wilkinson y Trott (1985) reportaron que las cianoesponjas fototróficas son más prevalentes por encima de los 40 m en Davies Reef (en la Gran Barrera Arrecifal Australiana), es decir en áreas donde hay más del 5% de la irradiancia superficial, registrándose mayores abundancias a 20 m.

Para este estudio se eligió a la esponja de barril *Xestospongia muta*, la cual es un conspicuo y abundante miembro de la comunidad bentónica arrecifal del Caribe. Debido a su tamaño y abundancia es considerada como una especie emblemática del sistema arrecifal del Caribe y ha llamado la atención de buzos, pescadores y científicos. Entre los rasgos más destacables sobresale su característica coloración rojiza-café, la cual se debe a la simbiosis obligada que presenta con cianobacterias fotosintéticas que viven en una capa superficial de la esponja (Steindler *et al.*, 2005). Sus notables tallas que logran alcanzar (record) 2.5 m de diámetro, (Nagelkerken *et al.*, 2000) reflejan también su gran longevidad (\approx 2000 años, McMurray *et al.*, 2008) y gran capacidad para filtrar grandes volúmenes de agua de mar. Se ha reportado que un individuo de *X. muta* con un volumen de 81 litros es capaz de filtrar 28800 litros por hora, lo que equivale a casi 6 veces su volumen corporal por minuto (Fiore *et al.*, 2012). Además, sus poblaciones presentan una amplia distribución vertical, encontrándose desde los \approx 8 m hasta más de 70 m. Estas características hacen a *X. muta* una especie clave para el acoplamiento pelágico-bentónico de los mares tropicales del Caribe (Diaz y Rützler, 2001).

Desgraciadamente, esta emblemática especie está siendo afectada por fenómenos de blanqueamiento, los cuales se han reportado en varios sitios del mar Caribe (Vicente, 1989;

Nagelkerken, 2000; Pawlik, 2005; Cowart *et al.*, 2006; López-Legentil, 2008). En algunos casos, este blanqueamiento culmina en la muerte del organismo y en otros es un fenómeno cíclico (Pawlik, 2005; Cowart *et al.*, 2006). Sin embargo, a pesar de los múltiples estudios se desconocen todavía las causas fisiológicas que explican esta respuesta de blanqueamiento. Profundizar en este tema requiere también del estudio de esta especie como un holobionte fotosintético.

Entre los estudios previos realizados en *Xestospongia muta* resaltan los realizados por McMurray *et al.* (2008). Estos autores realizaron un modelo de crecimiento para esta especie, calculando con ello la edad de sus poblaciones en los cayos de Florida. Para esto realizaron mediciones morfológicas (diámetro del ósculo, diámetro basal de la esponja, diámetro basal del ósculo, altura de la esponja y altura del ósculo) durante 4.5 años. Entre sus resultados más destacables, encontraron que la tasa específica de crecimiento disminuye con el incremento de la talla de la esponja y que la morfología de la esponja cambia de una forma de cono a una forma cilíndrica o de barril a medida que el tamaño del organismo–volumen incrementa.

En base a lo anterior, el interés de este estudio es determinar si este cambio morfológico sigue un patrón de crecimiento fijo (ontogénico) en el individuo o resulta de un ajuste morfo-funcional a la variación ambiental. El carácter obligado de esta simbiosis invita a hipotetizar que este ajuste morfo-funcional ha de tener un importante control ambiental y la luz debe jugar en él un papel central para optimizar el metabolismo fotosintético del holobionte. La morfología de los productores primarios, especialmente las relaciones superficie/volumen y grosor de la estructura fotosintética, juegan un papel fundamental en la regulación de la eficiencia con la que colectan la luz y se incrementa la actividad fotosintética (Agustí *et al.*, 1994; Enríquez *et al.*, 1994, 1996). Por lo tanto, en el amplio gradiente lumínico en el que se distribuye *X. muta*, algunos de los cambios que se observan en su morfología y en la población de simbiosis así como en su fisiología, han de estar determinados por estos cambios en la disponibilidad de luz. El objetivo de este trabajo fue analizar los cambios morfológicos y fisiológicos de la relación simbiótica esponja-cianobacteria que se inducen en la distribución vertical de *X. muta*. Para ello nos enfocamos en el estudio de la fotobiología del tejido simbiótico, para describir las propiedades funcionales relevantes como la capacidad y eficiencia de absorción de luz, la actividad fotosintética del tejido simbiótico, así como la variabilidad de la eficiencia fotoquímica, fotosintética y cuántica del uso de la luz absorbida en el proceso fotosintético. También se ha estudiado la importancia del metabolismo fotosintético

frente al metabolismo heterotrófico, así como su variación en función de los cambios que se han observado en la forma de esta esponja. Por último, se analizó la variabilidad espacial de la morfología de esta esponja para determinar si la luz juega o no un papel determinante en su ajuste morfo-funcional a través de la optimización de la fisiología fotosintética de esta simbiosis.

2 Objetivo general

- Analizar la variación morfológica y fisiológica en la relación simbiótica esponja-cianobacteria de *Xestospongia muta*, para evaluar la contribución de la actividad fotosintética al metabolismo trófico de la esponja.

2.1 Objetivos particulares

- Determinar el efecto de la profundidad sobre la variación en pigmentación y densidad de cianobacterias en el tejido fotosintético de *X. muta*
- Analizar las propiedades ópticas de *X. muta* y analizar su relación con los cambios en la densidad de pigmentos.
- Determinar la proporción del material orgánico e inorgánico del tejido simbiótico de *X. muta* y su variación con la profundidad.
- Determinar el efecto de la profundidad sobre los cambios morfológicos de *X. muta*
- Caracterizar la fisiología del holobionte (fotosíntesis:respiración) y examinar la contribución de la actividad fotosintética al metabolismo trófico de la esponja.

3 Hipótesis

- Los ajustes morfo-funcionales en *Xestospongia muta* responden a los cambios ambientales como la disminución de la luz en profundidad, reflejándose en cambios morfológicos, en la población de simbiosis y en la fisiología de la fotosíntesis.

4 Materiales y Métodos

4.1 Área de estudio

Los muestreos y mediciones de *Xestospongia muta* fueron obtenidos de los arrecifes de Cozumel y de Puerto Morelos en el estado de Quintana Roo, los cuales forman parte del Sistema Arrecifal Mesoamericano (Fig.1). Ambas zonas se encuentran influenciadas por la corriente del Caribe, la cual se forma a partir de la Corriente de Guyana, con mezcla de aguas del Mar Caribe y del Mar de los Sargazos, formando así la Corriente de Yucatán, que fluye paralela al borde de la plataforma continental (Suárez-Morales y Rivera, 1998) y atraviesa el canal entre la isla de Cozumel y el macizo continental con un transporte neto de sur a norte (Muckelbauer, 1990; Chávez *et al.*, 2003).

En la isla de Cozumel se trabajó en el Parque Nacional Arrecifes de Cozumel (PNAC) ubicado en la zona de sotavento de la isla. Estos arrecifes se encuentran en una plataforma corta y generalmente se encuentran formando tres terrazas bordeadas por escalones, presentando una caída o pared a los 25 m de profundidad (Muckelbauer, 1990). Mediante buceo autónomo se contabilizó el número de individuos de *X. muta* en transectos de 5 m de ancho por 50 m de largo. Los transectos se extendieron paralelamente a la línea de costa (tres por arrecife) en los diferentes estratos de profundidad.

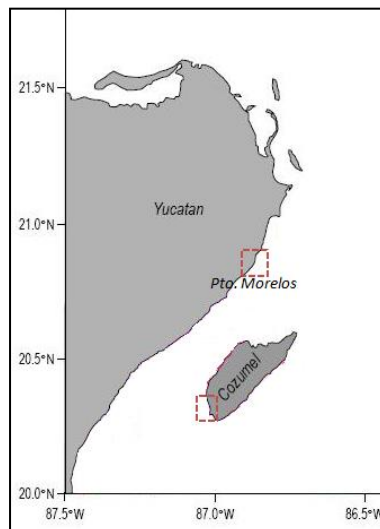


Fig. 1. Área de estudio de *Xestospongia muta* en Puerto Morelos y Cozumel, Quintana Roo, México.

En la zona de Puerto Morelos se trabajó en dos sitios, uno ubicado dentro del Parque Nacional Arrecife de Puerto Morelos (PNAPM; 20°52'39"N y 86°50'30.7"W) y otro al sureste del parque (20°48'41.6"N y 86°51'43.9"). A diferencia de los arrecifes de Cozumel, esta zona presenta una amplia plataforma con una pendiente suave.

Se tomaron mediciones morfométricas de distintos individuos utilizando una cinta métrica tanto en los arrecifes de Cozumel (55 individuos) como en Puerto Morelos (23 individuos). Para la extracción de las muestras se utilizó un tubo galvanizado de 3.6 cm de diámetro. Los núcleos de la esponja se colectaron tanto de la cara exterior como de la cara interior a una distancia entre 10 y 15 cm de la parte superior de la esponja. Las muestras se transportaron al laboratorio de la Unidad Académica de Sistemas Arrecifales, ICMYL, UNAM en donde fueron procesadas.

4. 2 Fotobiología de *Xestospongia muta*

4.2.1 Descripción del tejido fotosintético

El grosor de este tejido se midió con un vernier sobre las muestras utilizadas para las determinaciones de los espectros de absorción de luz, la cuantificación de cianobacterias y pigmentos, y para el análisis del componente orgánico e inorgánico. Además, se tomaron fotografías digitales con una cámara Canon power shot A640 (Japón) para realizar estimaciones del área mediante el software Image J.

Extracción y cuantificación de cianobacterias y pigmentos

Para determinar el contenido de pigmentos hidrofílicos y lipofílicos, se extrajeron primero las ficobiliproteínas (hidrofílicos) y después la clorofila (lipofílico). Para esto, se siguió la metodología de Stewart y Farmer (1984) modificada por Schubert *et al.* (2011).

Extracción de células y pigmentos. Se maceró el tejido fotosintético en un mortero enfriado previamente a fin de extraer las cianobacterias de la muestra. Mediante una pipeta Pasteur se fue extrayendo el sobrenadante, el cual fue depositado en un tubo de 15 ml. El resto del tejido triturado fue enjuagado varias veces con pequeñas cantidades de una solución amortiguadora de fosfatos (pH 6.8, 0.1 M) al fin de extraer todas las cianobacterias (Fig. 2). Posteriormente se mezcló vigorosamente la muestra contenida en el tubo falcón por medio de un agitador vortex (Ika, U.S.A) y se tomó una submuestra de 500 µl para el conteo de células,

la cual se mantuvo en refrigeración a 4°C por menos de 24 horas antes de su cuantificación. El resto de la muestra se ocupó para la extracción y cuantificación de pigmentos. Para facilitar el rompimiento de las paredes celulares se utilizó la prensa hidráulica de French Sim-Aminco, (E.U.A). Previamente se enfriaron el pistón y todos sus elementos para evitar el calentamiento de las muestras. Cada muestra fue pasada tres veces por la prensa a una presión de 20,000 PSI. La muestra se incubó en oscuridad a 4°C durante 2 h. Pasado este tiempo se centrifugaron las muestras a una velocidad de 16500 X g por 20 min a 4°C. Finalmente se extrajo el sobrenadante para la cuantificación de los ficobilipigmentos por medio de una lectura de absorbancia en el espectrómetro Ocean Optics USB 4000 (E.U.A.) Para la cuantificación de Chl a, se agregaron 2.5 ml de acetona al 90% al pellet de las muestras. Posteriormente se mezcló vigorosamente con el agitador vortex y se mantuvieron las muestras extraídas a 4°C en oscuridad por 12 h. Una vez transcurrido este tiempo, las muestras se centrifugaron nuevamente a 10,000 X g por 10 min.

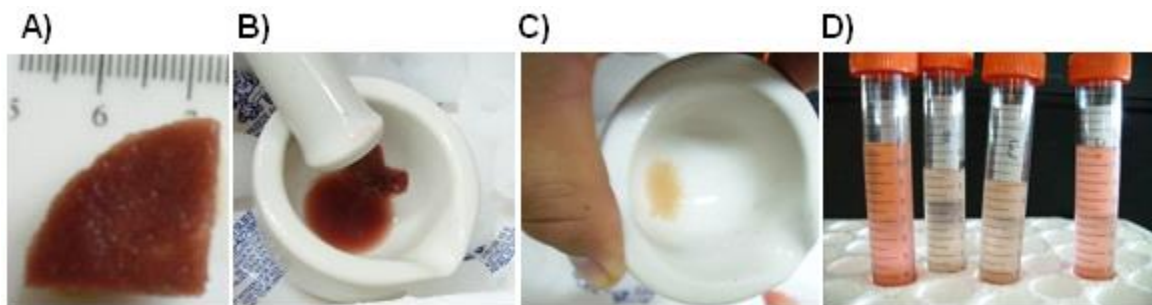


Fig. 2. Extracción de células y pigmentos de los tejidos fotosintéticos de *X.muta*. A) Segmento de esponja (tejido fotosintético), B) Homogenización del tejido fotosintético, C) Extracción de cianobacterias y enjuague del tejido, D) Ficobiliproteínas extraídas.

El contenido de ficobiliproteínas se determinó usando las ecuaciones descritas en Kursar *et al.* (1983). La clorofila a se determinó usando la ecuación de Jeffrey y Humphrey (1975) para acetona al 90%. Se normalizaron las absorbancias restando el mínimo valor entre (725-750 nm).

$$\text{Aloficocianina (APC)} = 181.3 D_{651\text{nm}} - 22.3 D_{614\text{nm}}$$

$$\text{Ficocianina (PC)} = 151.1 D_{614\text{nm}} - 99.1 D_{651\text{nm}}$$

$$\text{Ficoeritrina (PE)} = 155.8 D_{498.5\text{nm}} - 40.0 D_{614\text{nm}} - 10.5 D_{651\text{nm}}$$

$$\text{Clorofila a (Chla)} = 11.47 D_{664\text{nm}} - 1.54 D_{647\text{nm}} - 0.08 D_{630\text{nm}}$$

Cuantificación de cianobacterias.- El conteo de células se realizó por medio de un microscopio de epifluorescencia Axioskop 40 (ZEISS, Alemania) y un hematocitómetro. De los

500 μl de la muestra se tomó una alícuota de 200 μl , la cual se diluyó para facilitar la cuantificación en el microscopio.

Composición orgánica e inorgánica

Un cuarto de la muestra se utilizó para determinar el componente orgánico e inorgánico mediante la metodología de la calcinación secuencial (Dean, 1974). Para la cuantificación de biomasa (dwt) se deshidrataron las muestras en una estufa Riossa (México) a una temperatura de 60°C durante 24 h. Para obtener el peso orgánico o el peso libre de cenizas (AFDW=dwt-AW) se incineró la muestra con una mufla Vulcan A-550 (Canada) durante 8 h a 550-600°C para remover todo el carbono orgánico. AW representa la fracción inorgánica total y en este estudio representa el esqueleto de sílice de la esponja. Se incineraron también muestras a >900°C para cuantificar los posibles carbonatos (AFCaCO₃). La cuantificación del dwt y el AW se realizó con una balanza analítica OHAUS (Suiza).

Las muestras calcinadas de *X. muta* fueron fotografiadas utilizando una cámara Sony de 10 megapíxeles y para observar el efecto dispersivo de la luz en el esqueleto de *X. muta* se dirigió un laser hacia las muestras calcinadas. Además, se realizaron diferentes cortes con un cuchillo sobre estas muestras y mediante un microscopio estereoscópico Olympus SZH10 (Japón) se observó a detalle la configuración arquitectónica de las espículas de sílice del esqueleto simbiótico de *X. muta*.

4.2.2 Absorción de luz: determinación de las propiedades ópticas

La caracterización de las propiedades ópticas de *X. muta* se realizó espectrofotométricamente en base al protocolo descrito por Enríquez *et al.* (2005). Para los espectros de absorción y de reflectancia se utilizaron como blancos o líneas base de referencia muestras de esponjas blanqueadas (calcinadas a 1000°C X 12 h).

Los espectros de absorción de *X. muta* como de las cianobacterias simbióticas aisladas fueron determinados usando la técnica de *opal glass* desarrollada por Shibata (1959). Las lecturas espectrales se realizaron a intervalos de un nanómetro entre 350 y 750 nm en un espectrofotómetro Aminco DW2 (USA), controlado por un sistema colector de datos OLIS, (USA). La capacidad de absorción de luz del tejido fotosintético de *X. muta*, que es la fracción de la luz incidente absorbida por la esponja (Absorptancia, *A*), fue calculada a partir

de las mediciones de absorbancia (D) en la región visible del espectro (entre 400 y 700 nm) empleando la ecuación:

$$A = 1 - 10^{-D}$$

La fracción de luz transmitida (transmitancia, T) a través del tejido fotosintético fue determinada usando una esfera integradora de luz y un espectrómetro (Ocean Optics USB 4000, USA) conectado a una fibra óptica (diámetro de 300 μm) en el rango espectral de 350 a 750 nm. La transmitancia (T) se midió en muestras de tejido intacto y en muestras blanqueadas de diferentes grosores. Las muestras se colocaron en celdas de plástico de 3 ml que se rellenaron con agua de mar filtrada.

Una vez determinados los grosores de las muestras donde T es cercana a cero, se realizaron las mediciones de reflectancia. Para los espectros de reflectancia se colocaron las muestras en un recipiente de fondo oscuro con agua de mar filtrada. La iluminación homogénea se consiguió mediante una semiesfera pintada con sulfato de Bario la cual se iluminó en su superficie cóncava mediante un set de lámparas halógenas y LEDs. La fracción de luz reflejada por la esponja se midió con un espectrómetro (Ocean Optics USB 4000, USA) conectado a una fibra óptica (diámetro de 300 μm) ubicada a 1 cm sobre la superficie de la esponja en un ángulo de 45°. Los datos fueron registrados por medio del software Spectra Suite. Los valores de reflectancia se expresaron como cociente entre la irradiancia medida de la superficie de la esponja, en relación a una superficie de referencia. Para medir la reflectancia del esqueleto puro se utilizó como superficie de referencia un pedazo de teflón, mientras que para las muestras de esponjas vivas, la superficie de referencia fue el esqueleto blanqueado de la esponja. Mediante este método también pudo calcularse la absorbancia (A), a partir de los valores de reflectancia (R) mediante la siguiente ecuación:

$$A = 1 - R$$

Conociendo el contenido de pigmentos y la absorbancia se calculó el coeficiente específico de absorción de luz (a^*). Este es un descriptor de la eficiencia de los pigmentos fotosintéticos en absorber luz que se determinó según Enríquez *et al.* (2005).

$$a^* = (D/\rho) \ln 10,$$

donde D es la absorbancia obtenida por el método de transmisión (opal glass) o estimada por el método de reflectancia ($D = \log(1/R)$), ρ es el contenido de pigmentos por unidad de área proyectada y el factor $\ln 10$ es necesario para transformar logaritmos en base

10 (lectura del espectrofotómetro) en logaritmos en base e (coeficiente de una función exponencial de extinción de luz). Como descriptor de la eficiencia de absorción de luz se usó ($a^*_{675\text{nm}}$) en $\text{m}^2 \text{mg}^{-1} \text{Chla}$.

4.2.3 Caracterización fisiológica

Medición de la eficiencia fotoquímica efectiva

La eficiencia fotoquímica efectiva (en iluminación, $\Delta F/Fm'$) se midió *in situ* sobre el tejido de esponjas de mediano tamaño, de una altura promedio de 40 cm y un diámetro del ósculo de 30-40 cm. Estas medidas se hicieron con un fluorómetro sumergible de amplitud modulada (Diving-PAM, Heinz Walz, Effeltrich, Alemania) en el pico diurno de luz (de 11:00 am a 12:00) a tres profundidades (9, 20 y 25 m). Las mediciones de $\Delta F/Fm'$ se realizaron a lo largo de la esponja y a lo largo de la cara interior del atrio. Cada medición se realizó en un área previamente sombreada con la fibra óptica durante aproximadamente un minuto para relajar los fotosistemas.

Determinación de fotosíntesis y respiración.

La fotosíntesis se estimó a través de curvas Fotosíntesis-Irradiancia (P vs E) de evolución de oxígeno, siguiendo la técnica establecida por Enríquez *et al.* (2002) y Cayabyab y Enríquez (2007).

Se llevaron a cabo mediciones de curvas P vs E en seis muestras de esponjas de 17 m de profundidad. Los cambios en la evolución de oxígeno fueron medidos polarográficamente con un electrodo tipo Clark Hansatech (U.K.) manteniendo la temperatura constante en 27°C por medio de un baño termocirculador con control de temperatura (Fisher Scientific, USA).

Las curvas P vs E permitieron determinar la tasa máxima de fotosíntesis (P_{max}), la eficiencia fotosintética a luz subsaturante (α) y las tasas respiratorias en oscuridad (R_d) y post-iluminación (R_I), de las cuales se determinó las irradiancias de saturación ($E_k = P_{\text{max}}/\alpha$) y de compensación ($E_c = R_d/\alpha$).

4.3 Análisis morfo-funcional de *X. muta*

4.3.1 Modelaje tridimensional

Se midieron *in situ* las siguientes características morfológicas de 20 individuos *X. muta* desde los más pequeños hasta los más grandes: altura de la esponja (A), diámetro del ósculo (D), altura del atrio (Aa), diámetro inferior del atrio (Da) perímetro basal (Pb; Fig. 3). Se seleccionaron e identificaron cuatro de estos individuos con morfotipos diferentes, y a partir de sus mediciones y de sus respectivas fotografías se realizaron modelos tridimensionales utilizando el programa de cómputo Blender 6.2 con el cuál fue posible calcular la superficie total de la esponja así como su volumen.

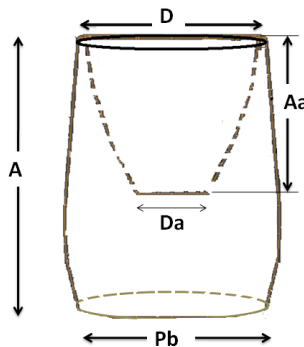


Fig. 3. Parámetros morfométricos tomados *in situ* de *X. muta*: Altura de la esponja (A), diámetro del ósculo (D), altura del atrio (Aa), diámetro inferior del atrio (Da), perímetro basal (Pb).

4.3.2 Modelos teóricos del balance heterotrofia-fototrofia en base a morfología reales

Para determinar los niveles de heterotrofia y/o fototrofia de *X. muta* se estimó la producción y consumo total de O_2 en los individuos modelados. Para ello, se multiplicó la media de la fotosíntesis máxima y la media de la respiración obtenida de las curvas P vs E con el área superficial y volumen total de cada morfotipo. Finalmente, se calculó el cociente entre el consumo total de oxígeno respirado y la producción total de O_2 producido en fotosíntesis por individuo modelado.

Para examinar el efecto de la variación morfológica y del tamaño en este balance, se crearon otros modelos a partir de los cambios observados en la variación natural. Se simularon los cambios en este balance heterotrofia/fototrofia manteniendo las morfologías constantes pero cambiando el tamaño de los individuos.

4.4 Análisis morfológico de *Xestospongia muta*

Se describió la variación morfológica de *X. muta*, utilizando para ello la base de datos de los arrecifes de Cozumel realizada por Álvarez-Filip en 2005 y también utilizando las dos poblaciones medidas en Puerto Morelos. Esta base de datos cuenta con mediciones de la altura de la esponja y el tamaño del ósculo (diámetro mayor, diámetro menor, perímetro y área), así como el sitio y la profundidad de colecta.

Para describir la variación espacial de la morfología, se desarrolló un índice morfométrico (I.M.) que permitiera describir las distintas formas que presenta *X. muta* y finalmente se analizó la relación alométrica tamaño/forma (I.M) entre poblaciones someras y profundas.

4.5 Análisis estadístico de datos

Se examinaron las diferencias morfológicas y las respuestas fisiológicas entre las caras exterior e interior de la esponja y entre las esponjas profundas y someras mediante pruebas *t*-student.

Se determinaron el grado y tipo de asociación entre los parámetros morfométricos por medio del coeficiente de correlación de Pearson. Los datos fueron previamente transformados logarítmicamente para normalizar su distribución de variación. Se utilizaron funciones alométricas entre variables ($y = a \cdot x^b$) para describir las asociaciones de variación. Para examinar la relación entre la morfología y la profundidad se subdividió la base de datos entre poblaciones someras (<20 m) y profundas (>20 m), ya que fue la única subdivisión que permitía un número suficiente de muestra en cada grupo, y se examinó si cada submuestra se comportaba de forma diferente en la relación alométrica tamaño/forma.

Se utilizó el análisis de varianza de una vía (ANOVA) para determinar posibles diferencias entre las abundancias relativas y la profundidad. Para realizar este análisis se agruparon las distintas profundidades en cuatro intervalos de profundidad acordes a los escalones que se presentan en la isla de Cozumel.

Todas las pruebas estadísticas se realizaron con un nivel de confianza del 95% utilizando el programa Statistica 7.0.

5 Resultados

5.1 Fotobiología de *Xestospongia muta*

5.1.1 Descripción del tejido fotosintético de *X. muta*

El tejido simbiótico, responsable de la colecta de la luz en *X. muta*, es una capa relativamente delgada de dos hasta 15 mm de espesor que recubre toda la zona superficial de la esponja, incluyendo la cavidad del atrio (cara interior). Esta capa se ha denominado “tejido fotosintético” y está definida por el límite de distribución de las cianobacterias en las células de la esponja, las cuales son las responsables de darle el color rojizo a la esponja. Este tejido fotosintético presenta diferencias que resaltan a simple vista entre la cara exterior y la cara interna de la esponja, entre ellas resalta la alta rugosidad de la cara externa y la mayor intensidad de la pigmentación de la cara interna (Fig. 4).

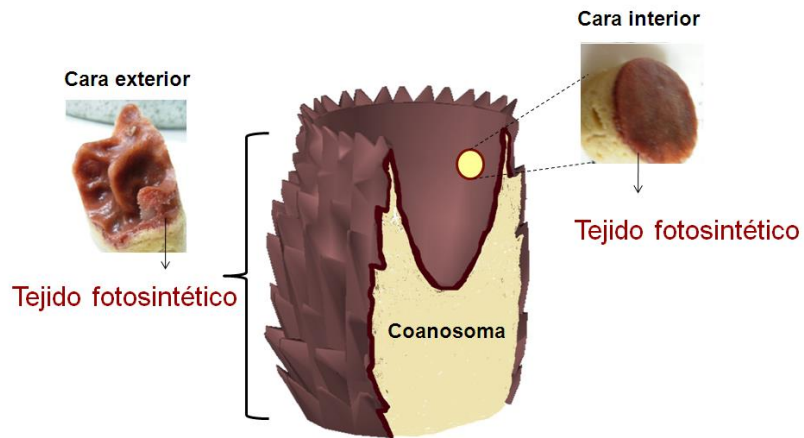


Fig. 4. Tejido fotosintético de *X. muta* en la cara exterior y en la cara interior del atrio.

Las determinaciones de la densidad de cianobacterias y pigmentos confirmaron que la cara interior presenta mayores valores de pigmentación que la cara exterior (Fig. 5A, B). Estas diferencias fueron significativas en la densidad de simbioses (t -test, $p < 0.05$) presentando un incremento del doble de cianobacterias en la cara interna (104%). No obstante, las densidades de Chl a no presentaron diferencias significativas entre ambas caras (t -test= $p > 0.05$), a pesar de observarse una tendencia a presentar un mayor contenido de clorofila (30%) en la cara interior. De igual forma las ficobiliproteínas se encontraron en mayor

densidad en la cara interior, aunque las diferencias en la aloficocianina y ficocianina no fueron tan marcadas como en la ficoeritrina (Fig.5B).

La media del grosor del tejido fotosintético fue de 2.5 mm y no se encontraron diferencias significativas entre ambas caras (*t*-test, $p > 0.05$) (Fig. 5C). El tejido fotosintético de *X. muta* está compuesto por un alta proporción de materia inorgánica (57%) representado por el esqueleto de espículas sílice (Anexo I. Fig. 32A). La proporción orgánica (43%) la componen las células de la esponja y las cianobacterias simbiotes. Aunque la cara interior presenta una mayor proporción del componente inorgánico (8%) estas diferencias no resultaron significativas (Fig. 5D). En el anexo I (Fig. 32B) se puede observar a estos simbiotes inmersos en el tejido de la esponja, alrededor de las espículas.

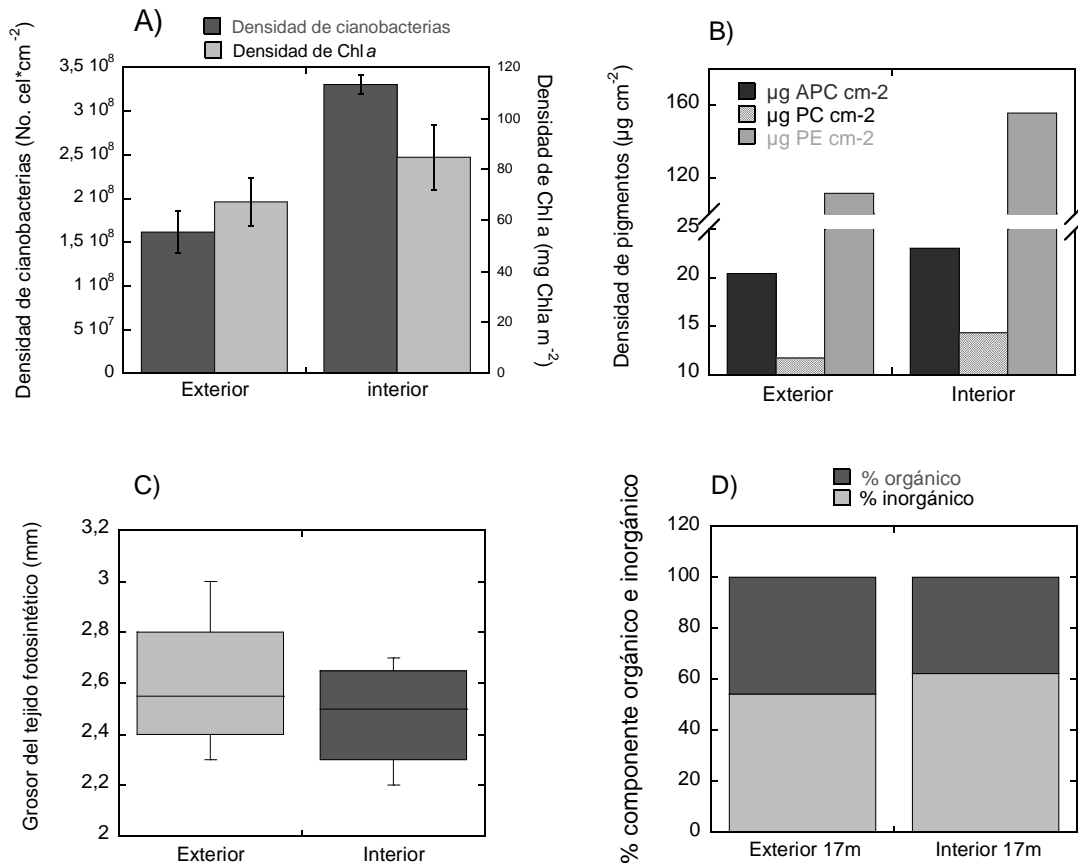


Fig. 5. Comparación de la cara interna y externa de la esponja. A) Densidad de cianobacterias y clorofila a, B) Densidad de ficobiliproteínas: APC-aloficocianina, PC-ficocianina y PE-ficoeritrina, C) Grosor del tejido fotosintético, D) Porcentaje de componente orgánico e inorgánico.

5.1.2 Propiedades ópticas de *X. muta*

Las determinaciones espectroscópicas de la absorbancia de *X. muta* usando la técnica de *opal glass* se muestran en la figura 6A. En estos espectros se observaron los picos de absorción característicos de los pigmentos de las cianobacterias y algas rojas: el pico de la clorofila $a \approx 675$ nm y los picos de los ficobilipigmentos: aloficocianina y ficocianina a 630 nm y ficoeritrina I y II a ≈ 550 y 495 nm, respectivamente. Los espectros de absorción de las cianobacterias aisladas de *X. muta* también se muestran para su comparación (Fig. 6A). Las muestras bien pigmentadas de *X. muta* con densidades de Chl *a* mayores a los $6 \mu\text{g m}^{-2}$ y con grosores de tejido fotosintético de 2.4 mm absorbieron alrededor del 72% de la luz incidente y transmitieron el 28%. La transmitancia del tejido fotosintético disminuyó exponencialmente al aumentar su grosor, desde un máximo de 84% de la radiación fotosintéticamente activa (PAR) con un grosor de 8 mm, hasta un mínimo del 8% con un grosor de 1.5 mm (Fig. 6B, C). La medición se realizó con una esfera integradora de luz (Fig. 6D).

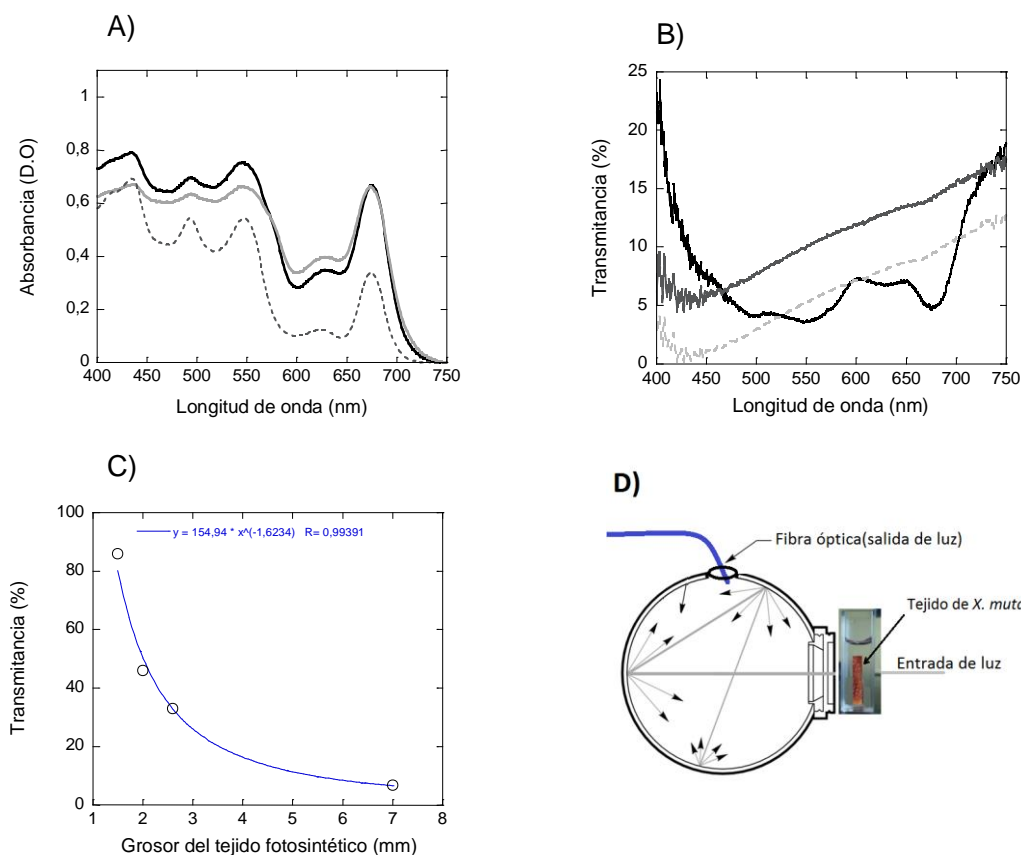


Fig. 6. A) Espectros de absorción del tejido vivo de *X. muta*. Línea negra cara exterior, línea gris cara interior y línea punteada cianobacterias simbiotes. B) Espectros de transmisión en tejido fotosintético intacto de 8 mm de espesor (línea negra), en tejidos blanqueados de 7.5 mm (línea gris oscura) y 9.5 mm (línea punteada). C) Transmitancia del tejido fotosintético en función de su grosor. D) Esquema de la medición de transmitancia usando la esfera integradora de luz

Se determinaron los espectros de reflectancia de *X. muta* utilizando muestras con grosores mayores a 15 mm. Los espectros de los esqueletos intactos mostraron un decremento continuo de la zona roja del espectro visible hacia los 400 nm. Por su parte las muestras vivas de tejido fotosintético reflejaron en promedio 37.1% del PAR (Fig. 7A). Estos valores fueron similares al *backscattering* o *scattering residual* de las muestras que se midieron con la técnica espectrofotométrica del opal glass propuesta por Shibata (1959). La absorción estimada a partir de los espectros de reflectancia ($\log 1/R$) se muestra en la figura 7B.

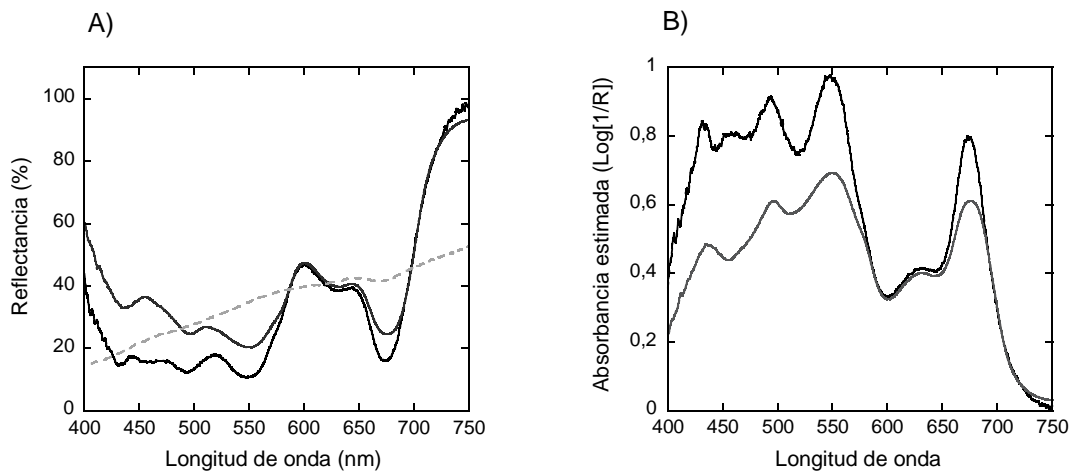


Fig. 7. Propiedades ópticas de *X. muta*. A) Espectros de reflectancia del tejido intacto de la cara exterior e interior y B) Espectros de la absorción estimada ($D=\log[1/R]$).

Del total de muestras analizadas, la fracción de luz absorbida, en promedio, por la cara externa e interna fue del 69.8% (± 6) y 66.3% (± 4), respectivamente, no obstante estas diferencias no resultaron significativas (t -test; $p > 0.5$). A pesar de que la cara interior presentó una mayor densidad de células y de pigmentos con respecto a la exterior, este incremento no se vio reflejado en un incremento significativo de la absorptancia, sino todo lo contrario, los valores promedios fueron ligeramente menores (Fig. 8A). Al igual que la absorptancia (A), el coeficiente específico de absorción (a^*_{Chla}) fue mayor en la cara exterior (Fig. 8B).

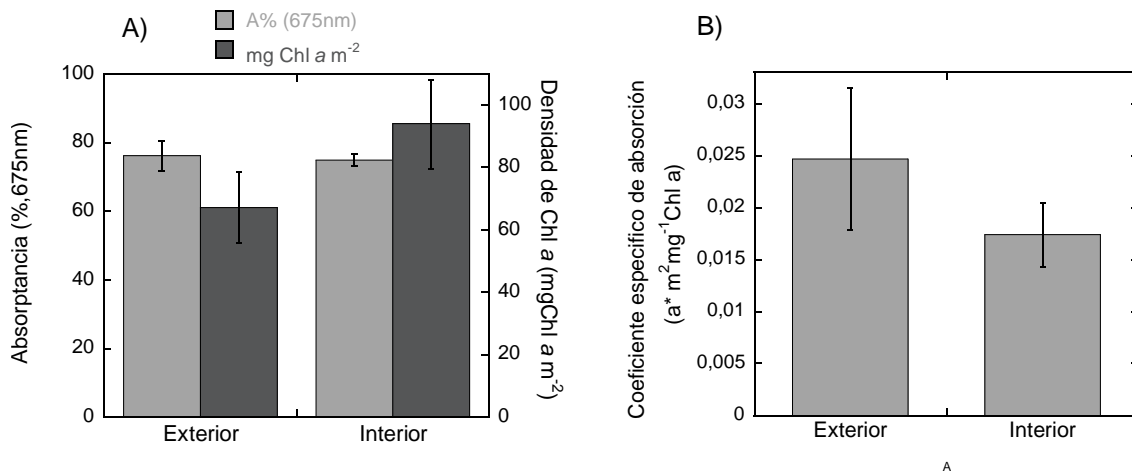


Fig. 8. Características ópticas de la cara interior y exterior. A) Absorbancia y densidad de clorofila *a* del tejido fotosintético de la cara interior y exterior de *X. muta*. B) Coeficiente específico de absorción

5.1.3 Análisis preliminar al blanqueamiento

Las características principales de las esponjas blanqueadas son la pérdida de pigmentación y número de cianobacterias. En la cara exterior la densidad de Chl *a* disminuye más drásticamente (en un 88%) que en la cara interior en donde esta reducción fue del 55% (Fig. 9A). Esta pérdida de pigmento estuvo asociada a una gran reducción (83%) del número de cianobacterias (Fig. 9B). Los efectos de la pérdida de simbiontes y pigmentos se vieron reflejados en una clara reducción de la capacidad de absorción de luz, sobre todo en la cara exterior (Fig. 9C). Sin embargo, estas diferencias no resultaron significativas con respecto a las esponjas sanas (*t*-test; $p > 0.05$), pues si bien algunos tejidos presentaron valores muy bajos de la absorbancia otros no lo hicieron (Fig. 9D).

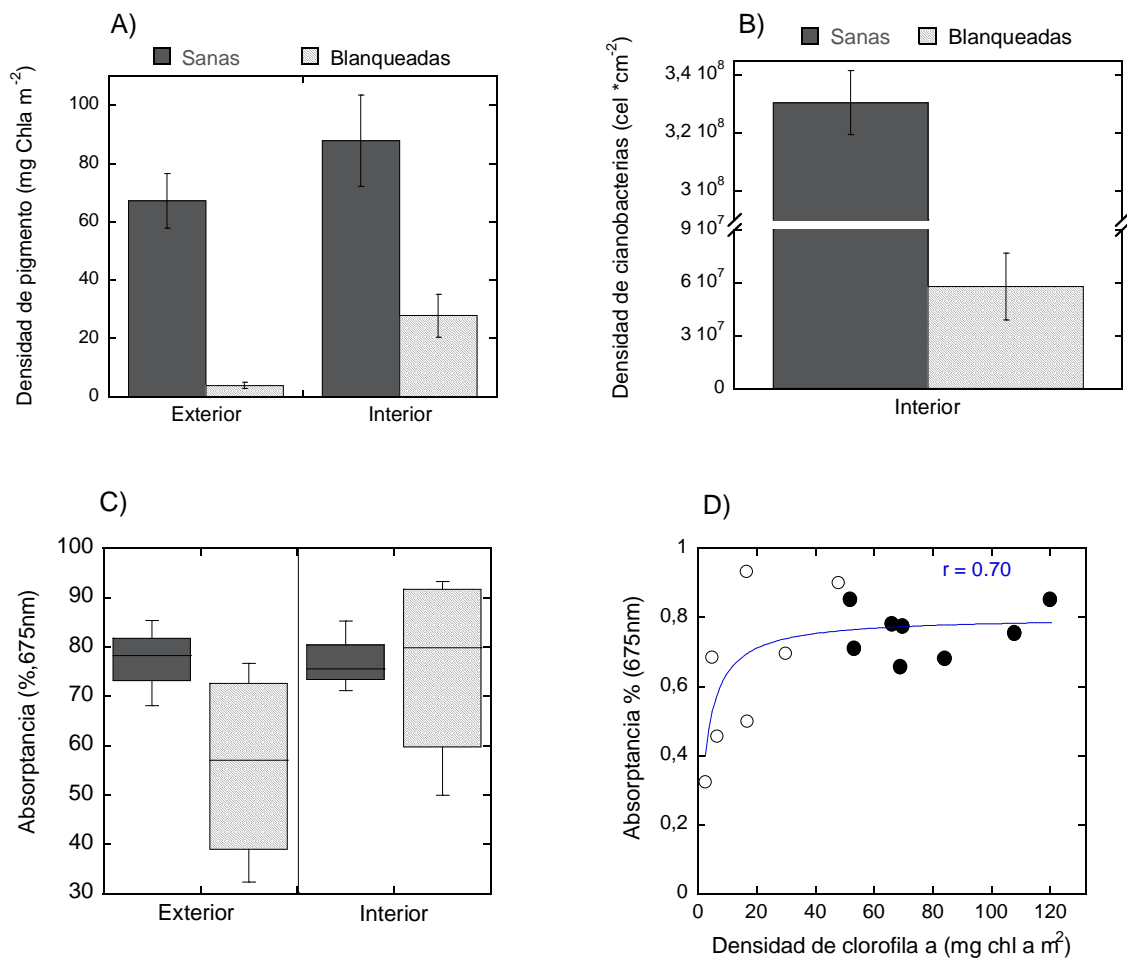


Fig. 9. Diferencias entre tejidos fotosintéticos sanos y blanqueados. A) Densidad de clorofila a, B) Densidad de cianobacterias de la cara interior, C) Absorptancias, D) Relación de la absorptancias en función de la densidad de Chl a de *X. muta* tanto en muestras blanqueadas (círculo blancos) como sanas (círculos oscuros).

Dado que la capacidad de absorción de luz depende del contenido de pigmentos hasta un valor máximo a partir del cual la absorptancia es una constante, la relación de estas variables se ajustó a la ecuación enzimática de Michaelis-Menton ($r=0.7$). En esta relación se encontró que las muestras de esponjas blanqueadas correspondientes a la cara exterior con densidades de Chl a menores a 7 mg m^{-2} absorben el 55% de la radiación incidente, mientras que las muestras de esponjas bien pigmentadas ($>50 \text{ mg Chl a m}^{-2}$) absorben el 77% de la luz. Por su parte, las muestras blanqueadas de la cara interior con densidades intermedias de Chl a (28 mg m^{-2}), absorben una proporción similar de la luz incidente (75%) respecto a las esponjas sanas bien pigmentadas (Fig. 9D).

Para cuantificar la variación en la eficiencia de absorción de luz del tejido fotosintético de *X. muta*, se analizó la variación del coeficiente específico de absorción de la Chl *a* en el pico de absorción a 675 nm ($a^*_{\text{Chl } a}$) en función de los cambios en la densidad de este pigmento. El $a^*_{\text{Chl } a}$ de *X. muta* varió de un mínimo de $0.013 \text{ m}^2 \text{ mg}^{-1} \text{ Chl } a$ para una muestra bien pigmentada hasta un máximo de $0.245 \text{ m}^2 \text{ mg}^{-1} \text{ Chl } a$ de una muestra de tejido blanqueado con una densidad de Chl *a* de 4.8 mg m^{-2} . El análisis comparativo de esta variación mostró que los valores de $a^*_{\text{Chl } a}$ estimados para el tejido intacto de *X. muta* en condiciones normales, son dos veces superiores que los valores estimados para las suspensiones de simbiontes aislados de estos tejidos con una sección transversal de densidad de pigmento similar (Fig. 10). En los tejidos blanqueados de la esponja se observaron los valores de $a^*_{\text{Chl } a}$ mucho más grandes (>1 orden de magnitud) en comparación con los valores estimados para las suspensiones de simbiontes aislados con una densidad de pigmento similar (Fig. 10).

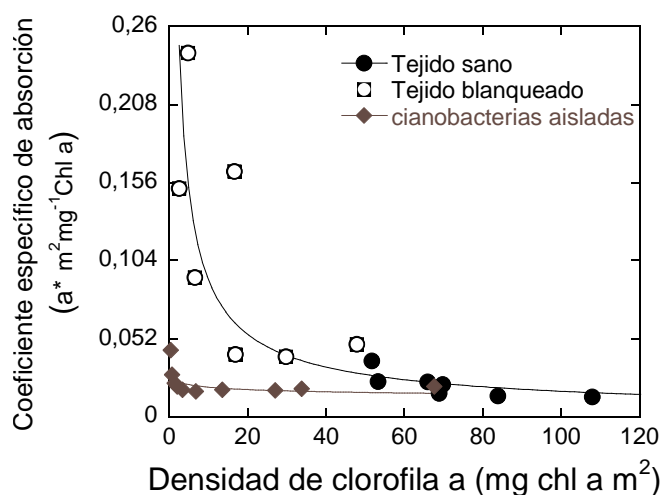


Fig. 10. Descripción de la variación de $a^*_{\text{Chl } a}$ en función de la variación de la sección transversal de pigmentos (densidad de Chl *a* en mg m^{-2}).

Otra de las características observadas de las esponjas blanqueadas fue un notable incremento del grosor del tejido fotosintético tanto de la cara exterior (*t*-test; $p < 0.05$) como de la interior (*t*-test, $p < 0.05$), siendo las diferencias más marcadas en la cara exterior (Fig. 11A). Este aumento del grosor está fuertemente y linealmente asociado ($r = 0.96$) con la eficiencia de absorción de luz del tejido ($a^*_{\text{Chl } a}$; Fig. 11B), así como a los procesos de una desorganización y exfoliación del tejido (Anexo II, Fig. 34).

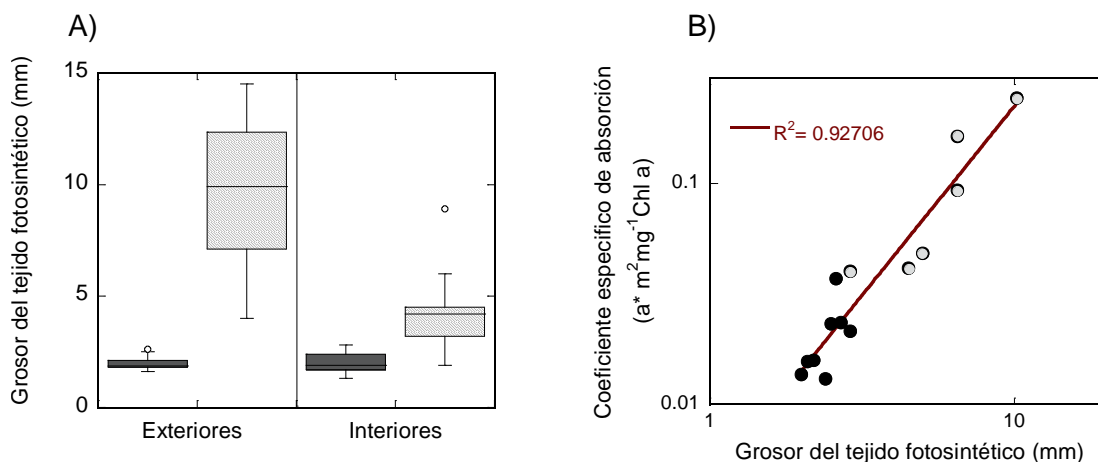


Fig. 11. A) Variabilidad en el grosor del tejido fotosintético de *X. muta* entre muestras de esponjas sanas (gris) y blanqueadas (rayas) tanto en la cara exterior como en la interior. B) Asociación lineal entre $a^* \text{Chl a}$ y el grosor del tejido fotosintético de *X. muta*.

Analizando la variación de la eficiencia fotoquímica máxima del fotosistema II (F_v/F_m) de las cianobacterias en las muestras de esponjas sanas y blanqueadas, se encontró una alta variabilidad en los valores de F_v/F_m entre las muestras blanqueadas (Fig. 12A), sin embargo, no se encontraron diferencias significativas con las muestras sanas (t -test $p > 0.05$). Por otra parte, al analizar la variabilidad de F_v/F_m en función de los cambios encontrados en el grosor del tejido fotosintético, se encontró que los organismos sanos tienen valores de F_v/F_m con cierta fluctuación en un grosor muy poco variable, pero los tejidos blanqueados muestran valores más bajos de F_v/F_m con similares grosores a los sanos, pero que se incrementan linealmente al aumentar el grosor hasta un valor de 6 mm. Por encima de este valor se observa una fuerte disminución de F_v/F_m en los tejidos con los grosores mayores (>10 mm). Sin conocer todavía el mecanismo fisiológico que explica esta respuesta, parece que el blanqueamiento y la pérdida de simbiontes va asociado a un incremento de estrés por luz en las cianobacterias (valores inicialmente más bajos de F_v/F_m) que migran hacia el interior del tejido de la esponja. Esta respuesta parece mejorar el estrés por luz que “sienten” inicialmente las cianobacterias en tejidos blanqueados ya que la eficiencia fotoquímica (F_v/F_m) se incrementa superando incluso los valores registrados en los tejidos sanos de la misma población. Sin embargo, esta respuesta no parece ser suficiente para parar la progresión del blanqueamiento pues a partir de un cierto valor del grosor del tejido fotosintético, los valores

de F_v/F_m caen a valores inferiores a los sanos en los tejidos más gruesos (>10mm; Fig. 12B).

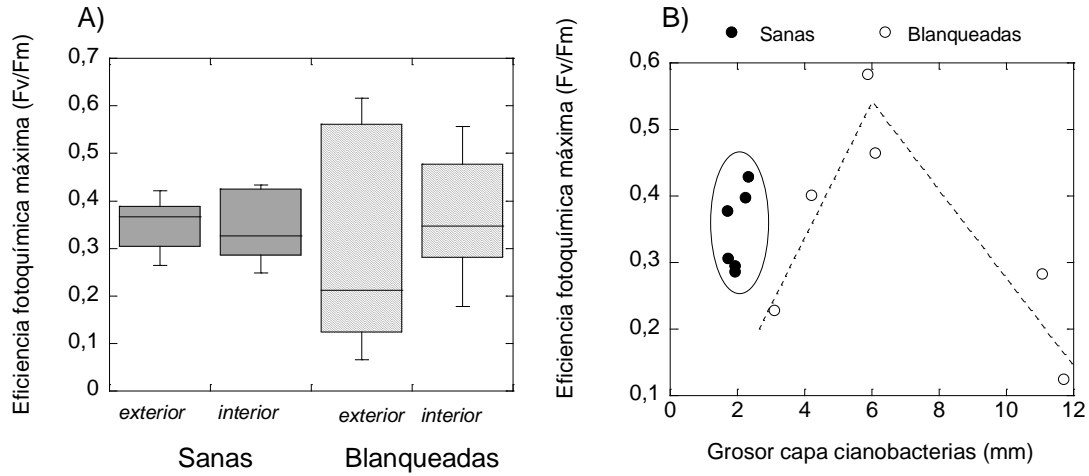


Fig. 12. A) Variabilidad de la eficiencia fotoquímica efectiva (F_v/F_m') en el tejido fotosintético de la esponjas sanas y blanqueadas (enfermas). El gráfico describe la mediana y los cuartiles 25% y 75% (caja), además de la variabilidad contenida entre los límites de confianza del 5% y el 95% (barras). B) Relación de la variabilidad en F_v/F_m de las cianobacterias en función de los cambios observados en el grosor del tejido fotosintético.

5.1.4. Efecto de la profundidad en la absorción de luz y en la densidad de simbioses

Los simbioses de *X. muta* cambian su contenido relativo de ficoeritrina I y II según la profundidad. En las esponjas de 40 m, la proporción de ficoeritrina II (PE II) fue mayor respecto a la I (PE I), resultando en una mayor absorbancia de PE II con su pico de absorción a 490 nm, mientras que en las esponjas de 17 m, la absorbancia de la PE I fue la mayor con su pico de absorción a 550 nm (Fig. 13A).

Además de las diferencias en absorción de luz, otra diferencia importante entre las esponjas profundas y someras fue la cantidad de cianobacterias, encontrándose mayor densidad en las esponjas de 40 m (35% más en la cara interna y 58% más en la externa). Las máximas densidades se encontraron en la cara interna, alcanzando valores de 3.23×10^8 cel*cm⁻² (Fig. 13B).

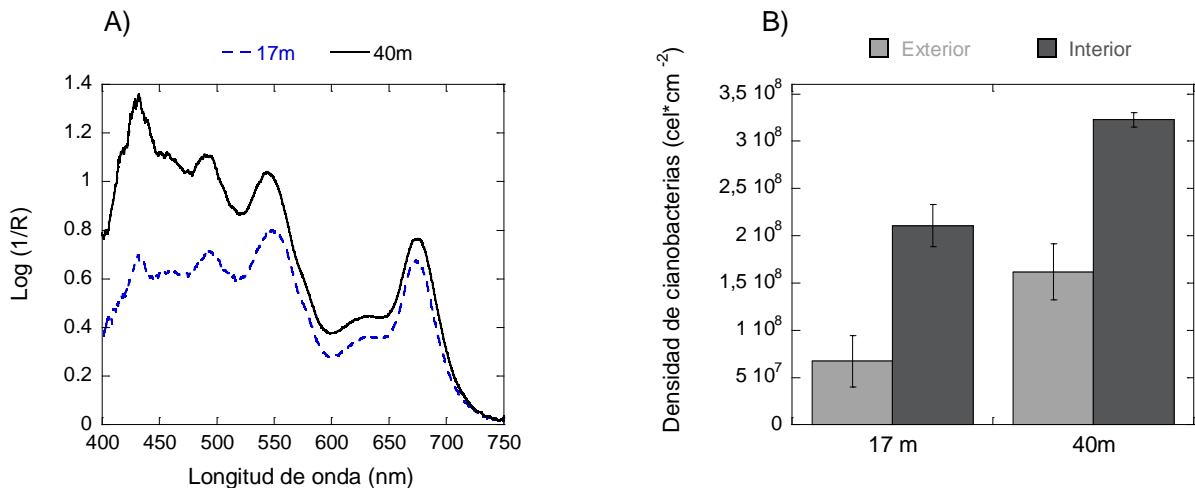


Fig. 13. A) Espectros de absorción de luz de dos individuos de *X. muta*, uno a 40 m (línea continua) y otro a 17 m (línea punteada). B) Densidad de cianobacterias en individuos de *X. muta* a 40 m y 17 m de profundidad en la cara interior (barras gris claro) y exterior (barras gris oscuro).

5.1.5 Caracterización fisiológica

Variación de la eficiencia fotoquímica del fotosistema II (PSII)

Se midió la eficiencia fotoquímica efectiva ($\Delta F/F_m'$) de la cara interior del atrio y exterior de esponjas en tres diferentes profundidades, a 25 m (n=2), a 20 m (n=4) y a 9 m (n=7). Los resultados mostraron que los valores de $\Delta F/F_m'$ aumentaron hacia las zonas más inferiores de la esponja, tanto de la cara interior como la exterior (excepto en la cara exterior de las esponjas de 9 m). Solo se encontraron diferencias significativas en los valores de $\Delta F/F_m'$ en el gradiente de la cara interna del atrio de las esponjas de 9 m (ANOVA, $p < 0.05$, Fig. 14A) y en el gradiente de la cara externa de las esponjas de 20 m (ANOVA, $p < 0.05$, Fig. 14B). También se observó que con la profundidad, la zona del atrio presentó valores más homogéneos y no así la cara externa. Por otra parte, la esponja de 25 m que presentó zonas de tejido blanqueado (Anexo II, Fig. 33), mostró caídas notables en los valores de $\Delta F/F_m'$ en comparación con la esponja sin blanqueamiento a la misma profundidad (Fig. 14C, D)

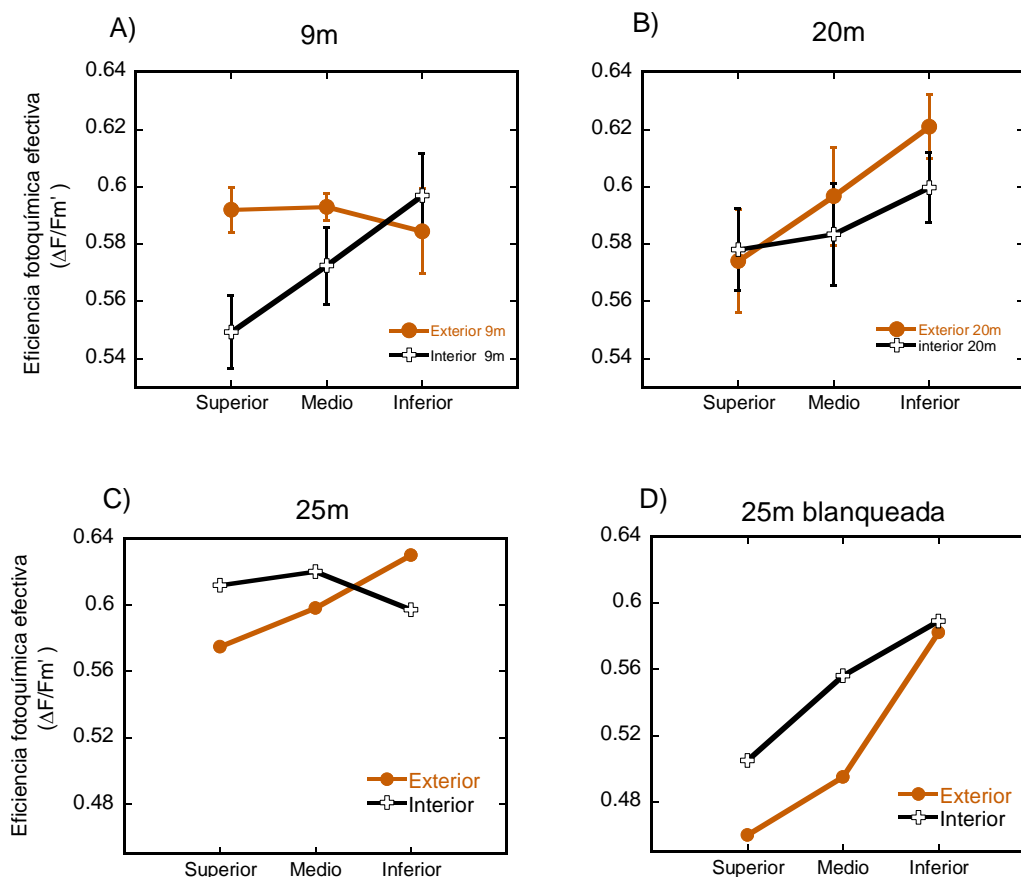


Fig. 14. Variación de la eficiencia fotoquímica efectiva, $\Delta F/F_m'$, entre la cara interior del atrio y la cara exterior de esponjas a distintas profundidades: A) 9 m, B) 20 m, C) 25 m y D) 25 m (presentando blanqueamiento).

5.1.6 Respuesta fotosintética a la luz

Las determinaciones de actividad fotosintética del tejido de la esponja se ajustaron a la ecuación enzimática de Michaelis-Menten para describir las curvas fotosíntesis-irradiancia (P vs E). De esta relación se encontró que la fotosíntesis máxima (Pmax) en la cara interior y exterior de las esponjas es similar (t-test, $p > 0.05$), alcanzando valores promedios de $1.2 \mu\text{mol O}_2 \text{ cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$ (Fig. 15).

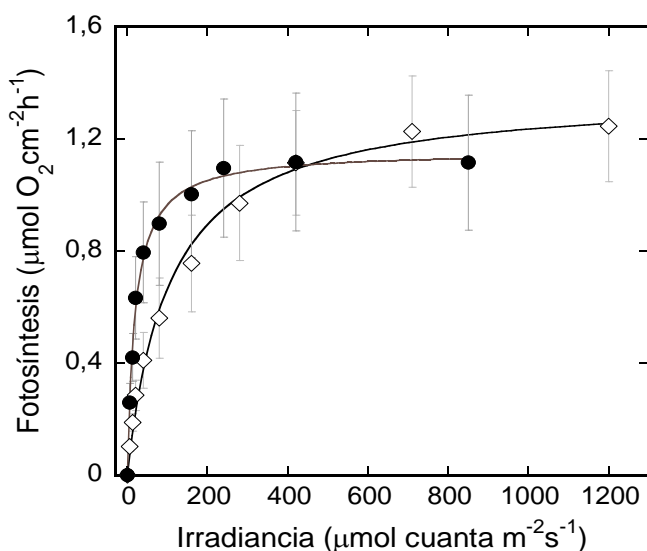


Fig. 15. Curvas de fotosíntesis-irradiancia de *X. muta*; círculos negros-cara exterior, rombos blancos-cara interior.

De los parámetros obtenidos de estas curvas P vs E se encontraron diferencias significativas (t-test, $p > 0.05$) tanto en la eficiencia fotosintética (α , $\mu\text{mol O}_2 \text{ cm}^{-2} \text{ h}^{-1} / \mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) como en la irradiancia de saturación (E_k , $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ s}^{-1}$; Fig. 16 A,B). Estas diferencias son respuestas fotoaclimatativas esperadas ya que las zonas menos iluminadas (cara interior) presentan una respuesta a baja luz con un α más alto y un E_k más bajo. Contrariamente, en la cara exterior de estos organismos, se presenta una respuesta a alta irradiancia, con valores menores de α y mayores de E_k . Esto indica que en la cara interior (aclimatada a baja luz) se necesitan la mitad de energía (66% menos fotones en la cara interior que en la exterior) para inducir similar actividad fotosintética a baja luz. Sin embargo, a luz saturante ($> E_k$) la producción fotosintética máxima de ambas caras es similar.

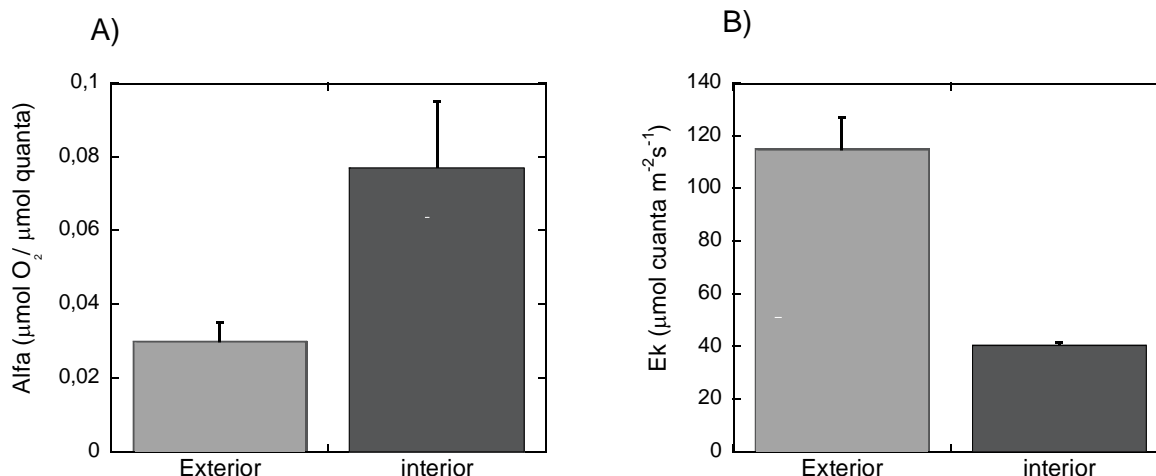


Fig. 16. Parámetros fotosintéticos de *X. muta*. A) Eficiencia fotosintética (α , $\mu\text{mol O}_2 / \mu\text{mol quanta}$ y B) Irradiancia de saturación (E_k).

A diferencia de P_{max} , la respiración mostró claras diferencias entre ambas caras de la esponja (t -test, $p < 0.05$). La cara interior incrementó el consumo de oxígeno en más del doble respecto a la cara exterior, llegando a valores de $2 \mu\text{mol O}_2 \text{ cm}^{-3}\text{h}^{-1}$ (Fig. 17).

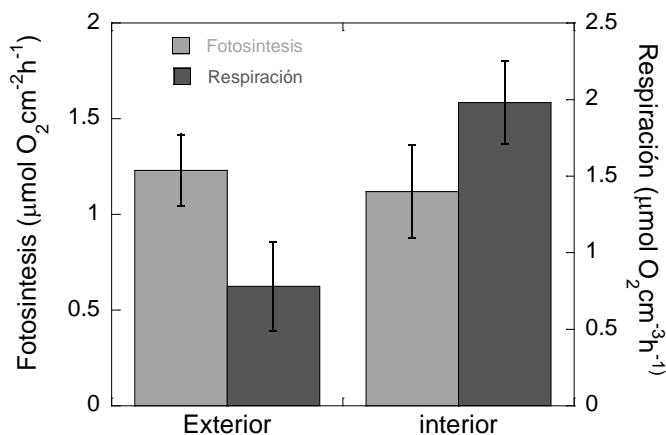


Fig. 17. Variación de la fotosíntesis máxima y respiración en organismos colectados a 17 m en el arrecife de Puerto Morelos.

A partir de las determinaciones de la capacidad de absorción de luz y de la eficiencia fotosintética (α) se calculó la eficiencia cuántica máxima (Φ_{max} , mol O_2 producido por mol quanta absorbido), y los requerimientos mínimos cuánticos ($1/\Phi_{max}$) del tejido de *X. muta*. Los valores de Φ_{max} estimados para la cara interior fueron de 0.11 moles de O_2 producidos por mol

de fotones absorbido, mientras que en la cara exterior fueron de 0.06 moles de O₂ producidos por mol de fotones absorbido. Por otro lado, los valores de $1/\Phi_{max}$ fueron de 9.1 fotones por mol O₂ producido para la cara interior y de 17.02 fotones por mol O₂ producido para la exterior.

5.2 Analisis morfo-funcional de *X. muta*

Los modelos tridimensionales generados a partir de las mediciones de campo y de sus respectivas fotografías se muestran en la Fig. 18. Así mismo, se muestran los cálculos de superficie y volumen en la Tabla I. Se observó que la razón superficie/volumen disminuye fuertemente en las esponjas más grandes debido al incremento diferencial del volumen con respecto al área (Fig. 19).

Tabla I. Área y volumen de los morfotipos de *X. muta*

| MORFOTIPOS | SUPERFICIE TOTAL CM ² | VOLUMEN TOTAL CM ³ |
|------------|----------------------------------|-------------------------------|
| A | 323.1 | 456.0 |
| B | 2371.0 | 5699.1 |
| C | 4790.3 | 12017.0 |
| D | 10542.0 | 28576.0 |

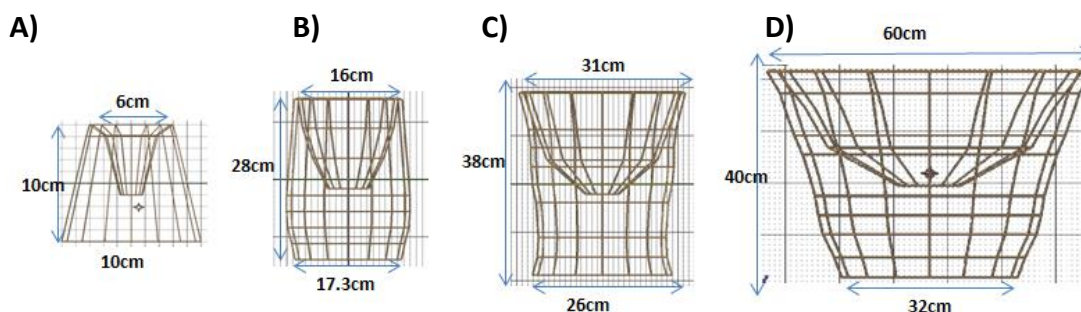


Fig. 18. Modelos tridimensionales de individuos de *X. muta*.

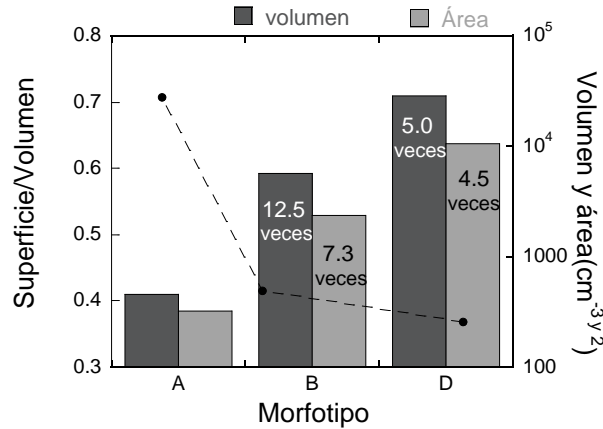


Fig. 19. Relación superficie/volumen en los morfotipos de *X. muta* (línea punteada). Las barras representan el volumen (gris oscuro) y el área (gris claro) de cada morfotipo.

5.2.1 Modelo teórico del balance heterotrofia-fototrofia en base a morfologías reales

A partir de los morfotipos creados, se extrapolaron las medidas fisiológicas de fotosíntesis y respiración al organismo entero y se estimaron sus balances de carbono para evaluar de forma cuantitativa la importancia de la fototrofia en el metabolismo de *X. muta*. El balance se cuantificó como la razón heterotrofia-fototrofia (cuantas veces respira más el organismo que su capacidad fotosintética).

De los resultados de este análisis se encontró que *X. muta* mantiene siempre niveles de heterotrofia más altos que los de autotrofia. De acuerdo a estos modelos, las esponjas pequeñas (400 cm^3) producen alrededor de $400 \mu\text{mol O}_2 \text{ h}^{-1}$ y consumen $600 \mu\text{mol O}_2 \text{ h}^{-1}$, resultando en un nivel de heterotrofia de 1.6 veces respecto a la autotrofia (Fig. 20A). Este nivel de heterotrofia se incrementó a 3.2 veces en las esponjas más grandes (Fig. 20B).

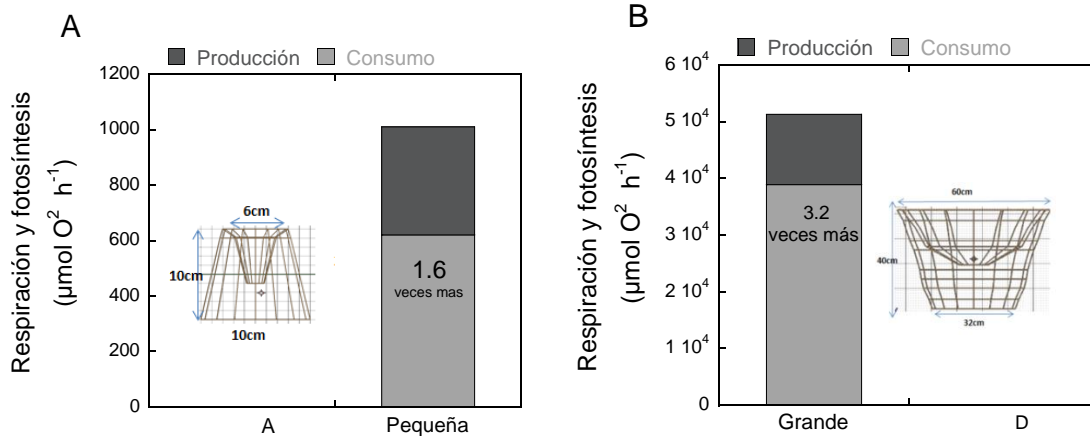


Fig. 20. Balance heterotrofia/fototrofia en morfotipo "A" (A) y morfotipo "D" (B).

Simulación del efecto de la morfología sobre el grado de heterotrofia:

Para ver el efecto de la morfología en este balance trófico, se simuló la variación para cada uno de los tres morfotipos de la relación superficie/volumen en función de los cambios en el tamaño del organismo. Estos modelos hipotéticos que se crearon manteniendo las morfologías observadas como una constante permitieron visualizar la magnitud del incremento en superficie de cada morfotipo al aumentar el tamaño de la esponja. Con el mismo tamaño (28.5 dm^3), los individuos con forma de cono (A) presentan el menor incremento en superficie, mientras que la forma de barril y copa mostraron incrementos en superficie del 36% y 107% respecto a la forma de cono (Fig. 21A).

Al calcular el cociente heterotrofia-fototrofia en cada nuevo morfotipo, y en función de los cambios en el tamaño, se observó una variación significativa entre estos. El morfotipo "A" tendría unas demandas respiratorias 6.3 veces mayores que su capacidad fotosintética si alcanzara un volumen de 28.5 dm^3 . En contraste, el morfotipo "D" con el mismo volumen, incrementaría sólo tres veces su consumo de O_2 (Fig. 21B).

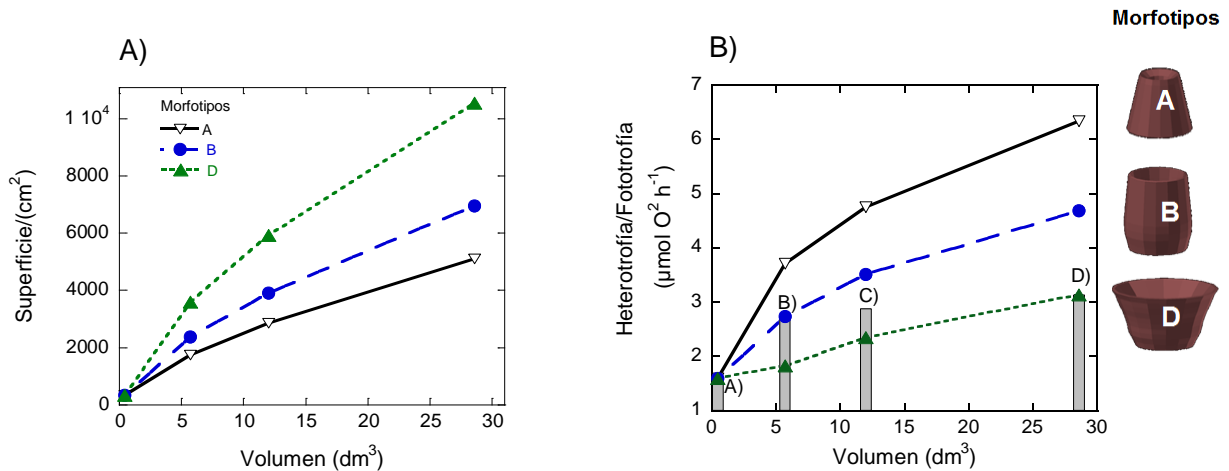


Fig. 21. A) Modelos teóricos de cambio de la relación superficie/volumen. B) Balance trófico de *X. muta* para cada morfotipo en función del tamaño de los organismos. Las barras representan los balances estimados de los organismos colectados en el arrecife de Puerto Morelos, morfotipos "reales".

Estos resultados dan una explicación funcional al cambio morfológico que se observa en *X. muta*. Aunque el balance es siempre heterotrófico para esta especie, cambios en la relación superficie/volumen pueden modificar fuertemente este balance, optimizando la producción de oxígeno. Es decir, incrementar el área total en relación al volumen de la esponja puede reducir las limitaciones energéticas (demandas de O₂) del organismo, lo que puede ser crítico en determinadas condiciones ambientales (poco flujo y/o poca luz). Se observó además que *X. muta* presenta protuberancias o expansiones del tejido en la cara externa de la esponja (cónulos), los cuales pueden ser muy prominentes. Al incorporar en los modelos los cónulos de la superficie del tejido, se observó que contribuyen significativamente a aumentar la superficie de la esponja sobre todo en los individuos más grandes (Tabla II, Anexoll, Fig.36).

Tabla II. Área y volumen de los morfotipos de *X. muta*

| MORFOTIPOS | ÁREA DE SUPERFICIE TOTAL CM ² | | |
|------------|--|-------------|-----------------|
| | sin crestas | con crestas | |
| | | | % de incremento |
| A | 323.1 | 369.7 | 14 |
| B | 2371.0 | 3980.3 | 68 |
| C | 4790.3 | 6392.1 | 33 |
| D | 10542.0 | 21334.0 | 102 |

Por tanto, estos cónulos reducen considerablemente los balances de heterotrofia/fototrofia (Fig. 22 A y B). Las fotografías de los ejemplares de cada morfotipo, así como sus modelos tridimensionales con los cónulos y surcos se muestran en el Anexo III. Fig. 35 y 36.

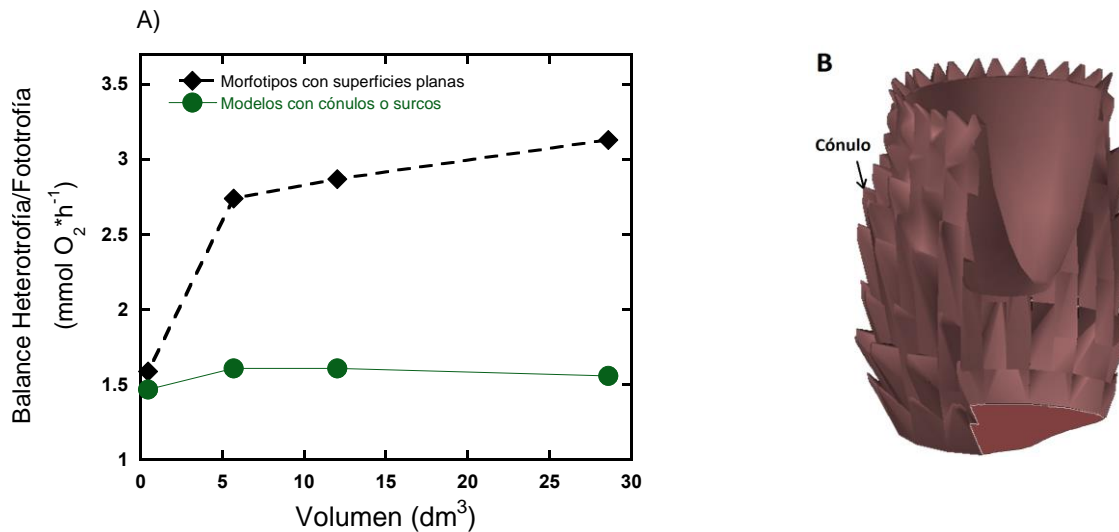


Fig. 22. A) Balance heterotrofia/fototrofia incorporando los cónulos de la superficie externa. B) Modelo del morfotipo "B"

5.3. Análisis morfológico de *X. muta*

Para ver la importancia que tiene la luz en estos cambios morfológicos se analizó la variabilidad natural de las poblaciones de *X. muta* en distintas profundidades de los arrecifes de Cozumel, a partir de la base de datos creada por el Dr. Álvarez-Filip, y de datos nuevos generados de individuos del arrecife de Puerto Morelos.

5.3.1 Descripción de la variabilidad morfológica natural de *X. muta*.

La variación morfométrica que presentó *X. muta* en este estudio se presenta en la Figura 23. Los tamaños de las esponjas medidas variaron de 2.5 cm a 120 cm en altura (C.V.=46%) y de 2 a 122 cm en el diámetro mayor del ósculo (C.V.=65%). El área del ósculo fue el parámetro que presentó la mayor variabilidad (C.V.=113%).

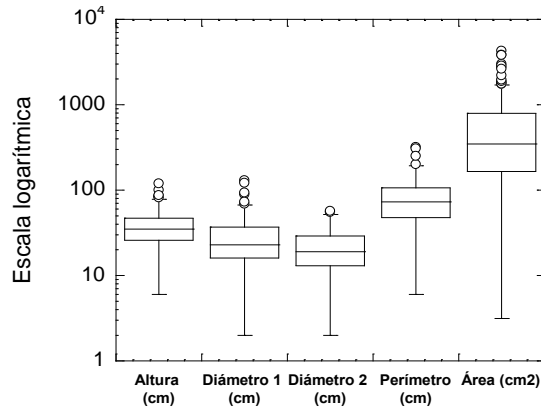


Fig. 23. Variación de los parámetros morfométricos de *X. muta*.

5.3.2 Análisis alométrico

La relación entre el tamaño del ósculo (diámetros, perímetro y área) y la altura del organismo presentó un grado de asociación alto ($r=0.80$, $p<0.5$). Esta asociación es no lineal (log-log) y puede describirse a través de una relación alométrica del tipo:

$$\text{altura} = a * \text{Diámetro}^b,$$

en donde b es el factor de escala que define los cambios en la altura de la esponja en función de la variación de su diámetro. De los resultados de este ajuste en donde el factor de escala es < 1 se concluye que en las esponjas pequeñas la altura es proporcionalmente mayor respecto al diámetro, mientras que en las esponjas grandes el diámetro es proporcionalmente mayor respecto a la altura del organismo (Fig. 24).

$$\text{Log altura} = 0.75 \pm \text{SE} * \log(\text{diámetro del ósculo}) + 0.69 \quad R^2 = 0.67, P < 0.0X, n = XX (1)$$

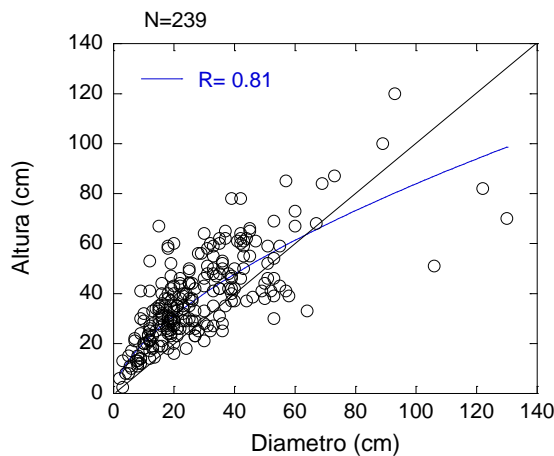


Fig. 24. Relación alométrica de la altura y del diámetro mayor del ósculo de *X. muta*

La línea diagonal de la relación diámetro del ósculo y altura (Fig. 24) representa la variación teórica que describiría una isometría corporal de la esponja (diámetro=altura). Sin embargo, la base de datos describe una variación no isométrica (pendiente o factor de escala < 1). Para describir las diferentes “tipologías” de la forma de *X. muta* se utilizó un índice morfométrico (I.M.) calculado a partir del cociente entre el diámetro del ósculo y la altura del organismo. Este índice morfométrico es un descriptor cuantitativo de la forma. Los valores de este índice < 1 representarían a las esponjas con alturas mayores respecto al diámetro (formas cónicas o formas de barril) mientras que los valores > 1 representarían a las esponjas con diámetros mayores respecto a la altura, es decir las formas achatadas o de copa (Fig. 25).

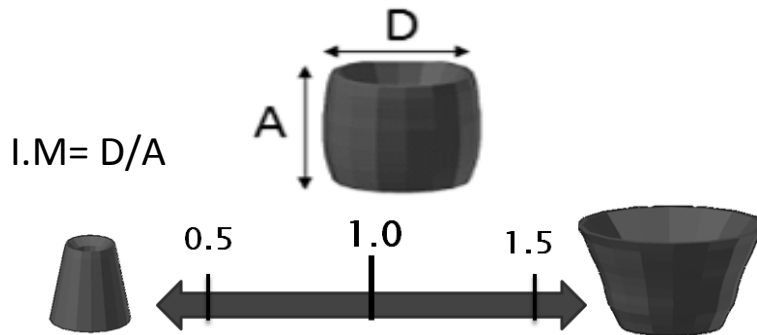


Fig. 25. Esquema del cálculo del Índice morfométrico I.M. (D=Diámetro del ósculo, A=Altura de la esponja).

En el análisis de la relación forma-tamaño, se utilizó el I.M. para describir la forma, y el área del ósculo para describir el tamaño del organismo. En esta relación se observó una inicial tendencia en el crecimiento de las esponjas a incrementar el tamaño del ósculo más rápidamente respecto a la altura, es decir los individuos más pequeños de *X. muta* presentan (I.M.≈0.5) (formas cónicas), las cuales cambian al incrementar el tamaño a formas de barril (I.M. <1.0) y/o a formas de copa (I.M. >1.0). No se observa una única tendencia de cambio en la forma del organismo al incrementar el tamaño pues individuos grandes y pequeños muestran todos los morfotipos posibles (Fig. 26). Tampoco se observa que la profundidad seleccione una morfología en particular, excepto en individuos de gran tamaño. Organismos con ósculos mayores a 2000 cm² presentan una selección de morfotipo en profundidad, ya que las esponjas en forma de barril (I.M. ≤ 1) se presentan a menor profundidad, en áreas por encima de los 20 m, mientras que las formas de copa (I.M. > 1) se presentan en las zonas más profundas (> 20 m; Fig. 26).

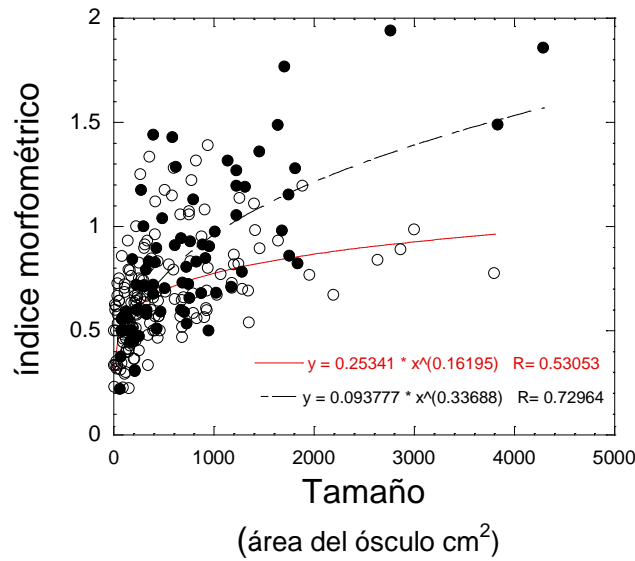


Fig. 26. Análisis alométrico de la relación entre los cambios en el tamaño y forma (I.M.) de la esponja *X. muta*. Círculos blancos, esponjas situadas entre 7 y 19 m de profundidad; círculos negros, esponjas creciendo entre 20 y 45 m de profundidad.

Aunado a las diferencias morfométricas asociadas a la profundidad se encontraron diferencias significativas en el diámetro del ósculo ($p < 0.05$) entre los organismos situados a diferentes intervalos de profundidad, no así para la variación de la altura de la esponja (Fig. 27).

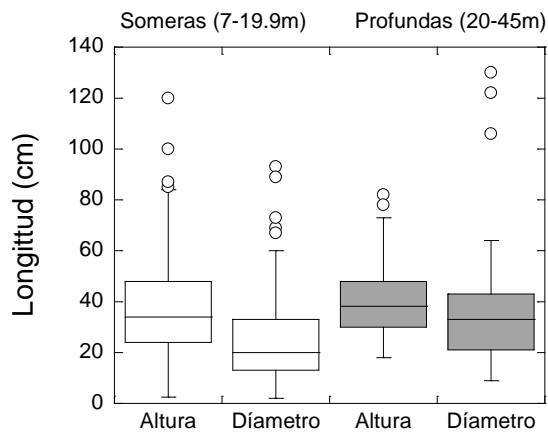


Fig. 27. Variación de la altura y diámetro mayor del ósculo de *X. muta* en poblaciones creciendo en Cozumel en dos clases de profundidad (someras = 7-19.9 m y profundas = 20-45 m).

5.4. Distribución y abundancia de *Xestospongia muta* en los arrecifes de Cozumel

La abundancia relativa presentó diferencias significativas con la profundidad (ANOVA, $p < 0.05$), excepto para las categorías más profundas (> 18 m; Tukey $p > 0.05$). Las poblaciones de *X. muta* son más abundantes en profundidad (> 18 m), pues se incrementan en promedio, de 0.03 individuos* m^{-2} a 0.17 individuos* m^{-2} (Fig. 28A). Cabe señalar que estos cambios en la abundancia relativa no dependen sólo de la profundidad, pues existen diferencias notables entre localidades. Por ejemplo, dentro de los arrecifes profundos, no se observó la mayor abundancia relativa en el más profundo (25 m), sino en el *Paso del cedral* (18 m). Pero en general, las áreas más profundas siempre fueron las que mostraron la mayor abundancia de *X. muta* con independencia de la localidad (Fig. 28B, Tabla III).

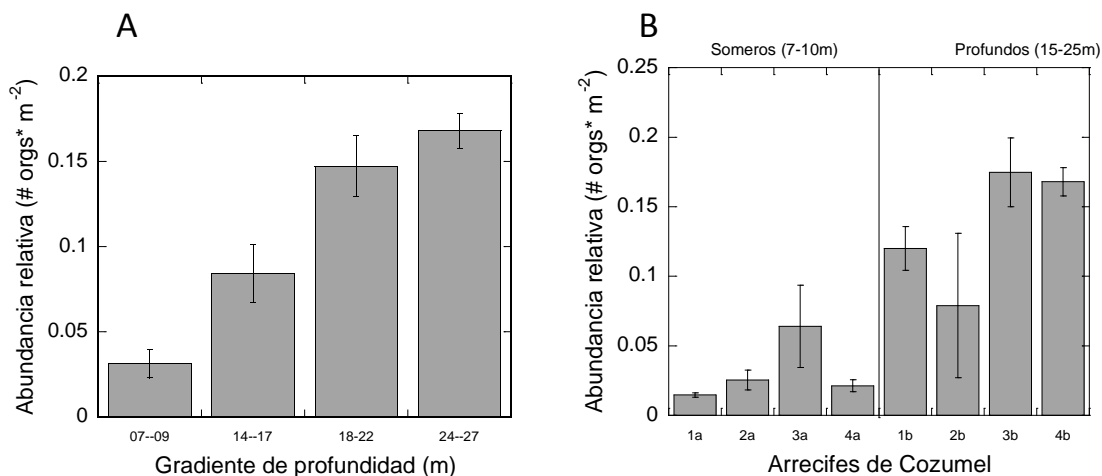


Fig. 28. A) Abundancia relativa de *X. muta* en un gradiente de profundidad y B) entre distintos arrecifes de Cozumel (ver Tabla III).

Tabla III. Abundancia relativa de *X. muta* en los arrecifes de Cozumel. * El arrecife Chankanab no se muestra en la gráfica por ausencia de comparación en profundidad

| CLAVE DE ARRECIFE | NOMBRE DE ARRECIFE | ABUNDANCIA RELATIVA | ERROR ESTÁNDAR | PROFUNDIDAD |
|-------------------|--------------------|---------------------|----------------|-------------|
| 1a | Palancar | 0.015 | 0.002 | 7m |
| 2a | Dalila | 0.025 | 0.007 | 7m |
| 3a | P.cedral | 0.064 | 0.030 | 7m |
| 4a | Colombia | 0.021 | 0.004 | 9m |
| 5* | Chankanab* | 0.053 | 0.010 | 16m |
| 1b | P.cedral | 0.175 | 0.025 | 18m |
| 2b | Dalila | 0.079 | 0.052 | 15m |
| 3b | Colombia | 0.168 | 0.010 | 25m |
| 4b | Palancar | 0.120 | 0.016 | 22m |

6 Discusión

6.1 Fotobiología en *Xestospongia muta*

En este estudio se demuestra por primera vez que la esponja *X. muta* presenta propiedades ópticas extraordinariamente eficientes para la dispersión y transmisión de la luz. Estas propiedades son fundamentales para explicar la fotobiología del tejido fotosintético de esta especie así como los cambios morfológicos que se observan en su desarrollo ontogenético y en su ajuste ambiental a diferentes condiciones arrecifales, ya que la capacidad de aumentar el campo lumínico de las cianobacterias simbiotas permite incrementar la actividad fotosintética del tejido a muy baja disponibilidad de luz en la columna de agua. De hecho, las picocianobacterias son capaces de mantener balances de carbono positivos y duplicarse a muy bajas intensidades de luz ($2 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, Mullineaux y Emlyn-Jones, 2005) debido a que son de los organismos unicelulares más pequeños (1-2 μm) y con mayores coeficientes específicos de absorción de luz (a^* ; Kirk, 2011).

Según los resultados, el tejido fotosintético de *X. muta* es capaz de alcanzar los valores de absorptancia máximos (80%) con sólo 20 mg Chl *a* m^{-2} (Fig. 9D), de forma similar a lo que se ha documentado previamente para corales escleractíneos (Enríquez *et al.*, 2005). En contraste, las hojas de las fanerógamas marinas *Thalassia testudinum* y *Syringodium filiforme* requieren 100 mg Chl *a* m^{-2} para maximizar su capacidad de absorción de luz en 75 y 86%, respectivamente (Enríquez, 2005; Pérez-Castro, 2011). El hecho de invertir menos pigmento, para coleccionar fracciones similares de luz, indica que los pigmentos (como es el caso de la Chl *a*) de las cianobacterias viviendo en el tejido de *X. muta* resultan más eficientes coleccionando la luz que acomodados en otras estructuras fotosintéticas como las hojas de los pastos marinos.

Los cambios en la eficiencia de absorción de luz de la clorofila *a* en diferentes estructuras fotosintéticas, se pueden analizar comparando el coeficiente de absorción de luz de este pigmento ($a^*_{\text{Chl } a}$) debido a que la clorofila *a* es un pigmento universal y presenta mínima interferencia con otros pigmentos accesorios en su pico de absorción a 675 nm. Al comparar la variación de $a^*_{\text{Chl } a}$ del sistema esponja-cianobacteria (*Xestospongia muta*) con otras estructuras fotosintéticas pluricelulares, se observó que estos valores son similares a los descritos para el coral *Porites branerii* (círculos blancos; Enríquez *et al.*, 2005) y mucho

mayores a los estimados por Enríquez (2005) y Pérez-Castro (2011) para las hojas de las plantas acuáticas *Thalassia testudinum* (cuadros verdes) y *Syringodium filiforme* (círculos verdes claros; Fig. 29). Además, se encontró que las cianobacterias incrementan su eficiencia de absorción de luz (factor de amplificación) de dos a más de 10 veces al formar parte del tejido de la esponja (Fig. 10).

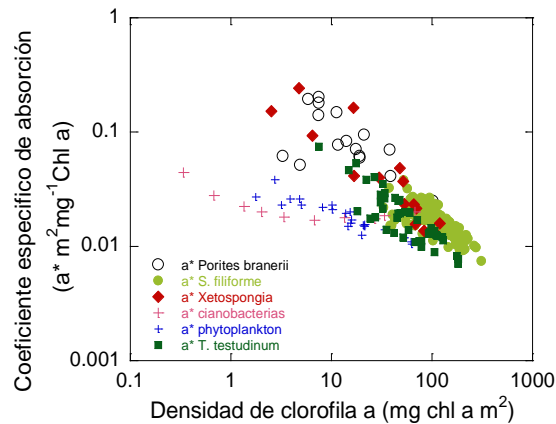


Fig. 29. Comparación del coeficiente específico de absorción en distintos organismos fotosintéticos.

La dispersión múltiple de la luz en organismos pluricelulares se ha considerado como el mecanismo que explica la variabilidad de la eficiencia de absorción de luz entre estructuras fotosintéticas (Enríquez y Sand Jensen, 2003; Enríquez *et al.*, 2005).

Se ha documentado que los corales escleractíneos son las estructuras más eficientes para la absorción de la luz gracias a la gran dispersión múltiple generada por su esqueleto de aragonita sobre el que se sitúa el tejido vivo del coral con las algas endosimbiontes. El esqueleto refleja y dispersa la luz múltiples veces, aumentando el paso óptico de la luz y mejorando significativamente la probabilidad de que un fotón sea absorbido por una molécula de pigmento (Enríquez *et al.*, 2005). Esta descripción detallada del esparcimiento múltiple y sus implicaciones en la absorción de luz de los corales escleractíneos, desafortunadamente todavía no se ha hecho en las esponjas fotosintéticas. La presente investigación es la primera que pone en evidencia el papel que juega el esqueleto de sílice de la esponja en la eficiencia de absorción de luz de las cianobacterias simbiotes.

Nuestros resultados indican que la capacidad de transmisión de luz del tejido fotosintético de *X. muta* y de incrementar la absorción de luz de las cianobacterias simbiotes debe ser favorecida por un eficiente dispersor y transmisor de luz. De acuerdo con los

resultados de Aizenberg *et al.* (2004) las espículas del esqueleto cumplirían esta función por su alto contenido de sílice. Esos autores demostraron que las espículas de *Euplectella aspergillum* funcionan como excelentes fibras ópticas dado la constitución de estas y por el alto índice de refracción que tiene el sílice (1.45) respecto al del agua (1.33). Además, recientes investigaciones han demostrado una alta capacidad de las espículas para transmitir eficientemente la luz hacia el interior de la esponja, favorecida por la especialización de las espículas en el arreglo del esqueleto que en conjunto funcionan como un sistema colector de luz (Brümer *et al.*, 2008). Esta propiedad de las espículas de sílice le permite a *X. muta* mantener suficiente actividad fotosintética de las cianobacterias incluso en expansiones del tejido de más de 10 mm de espesor (cónulos) en condiciones de suficiente iluminación de la columna de agua. Observaciones realizadas al microscopio del tejido simbiótico de *X. muta*, así como la iluminación con laser, apoyan estas conclusiones ya que se ha podido constatar que el esqueleto del tejido de *X. muta* funciona como una red de fibras ópticas gracias a las espículas de sílice que le permite conducir y dispersar la luz lejanamente del punto incidente (Anexo I, Fig. 31). De esta cualidad del esqueleto toman ventaja las cianobacterias al situarse alrededor de las espículas (Anexo I, Fig. 32).

La combinación de estos organismos unicelulares tan eficientes con las propiedades ópticas particulares del tejido de la esponja permite al holobionte *X. muta* generar un nuevo organismo con eficiencias de absorción de luz por unidad de pigmentos tan altas como las descritas previamente para corales escleractíneos (Enríquez *et al.*, 2005).

Si bien están claros los beneficios que esta relación simbiótica aporta a las cianobacterias, no son tan evidentes cuales pueden ser los beneficios que éstas le aportan a un holobionte que mantiene un metabolismo heterotrófico. Este trabajo sugiere que aparte del suplemento alimenticio que le pueden proveer las cianobacterias simbiotas a *X. muta*, es importante considerar que otra de las ventajas que le aporta la actividad fotosintética al holobionte es la producción de O₂. Mantener suficiente concentración de O₂ en el tejido es necesario para quemar el alimento y mantener suficiente actividad de las mitocondrias de los coanocitos responsables de asegurar una actividad constante de bombeo en este organismo filtrador.

Por otro lado, los beneficios que les proporciona la fotosíntesis de los simbiotas a esponjas y corales conlleva también un riesgo debido a que las tasas de absorción de luz pueden aumentar drásticamente al disminuir la población de simbiotas, más allá de la capacidad de estos para usarla en fotosíntesis, resultando en una fuerte producción de

especies reactivas de oxígeno (Reactive Oxygen Species, ROS; Asada, 1996; Venn *et al.*, 2007). En corales simbióticos, esta fragilidad del holobionte poco pigmentado podría explicar los límites de tolerancia de la relación simbiótica ante situaciones de alto estrés lumínico y poca densidad de simbioses y pigmento, es decir, el blanqueamiento de coral. En estas condiciones los niveles de exposición de luz de *Symbiodinium* spp. *in hospite* pueden incrementarse de forma muy rápida y afectar a la producción fotosintética (fotoinhibición), lo que va a conducir a altos niveles de estrés oxidativo en el tejido (producción de altas cantidades de ROS), que también afectan al hospedero y explicarían la expulsión drástica de los simbioses y el blanqueamiento de coral.

El estudio de las simbiosis y de los mecanismos fisiológicos que explican sus disfunciones no ha recibido la misma atención todavía en las esponjas fotosintéticas, por lo que los resultados de este proyecto son de gran relevancia al mostrar por primera vez los puntos posibles de convergencia con respecto a la simbiosis de coral pero también la singularidad de la relación simbiótica en esponjas. La alta eficiencia con la que colecta la luz *X. muta* podría explicar parte del blanqueamiento que se ha observado en esta especie, aunque todavía no se conoce/n la/s posibles causa/s que induce/n esta respuesta de blanqueamiento en esta especie. De acuerdo a los resultados mostrados en este análisis se observó que existe un gradiente de cambio en el tejido durante el proceso de blanqueamiento, tanto de incremento del grosor del tejido simbiótico como de cambio del estado de las células simbioses descrito cuantitativamente por el daño acumulado en su fotosistema II (variación de $\Delta F/F_m'$). Este comportamiento sugiere que la progresión del blanqueamiento en *X. muta* pudiera ser cuantificada y monitoreada por los cambios en $\Delta F/F_m'$ y en el grosor del tejido simbiótico que se van produciendo.

6.1.1 Análisis del efecto de la profundidad

Las poblaciones de *X. muta* analizadas en el presente trabajo fueron menos abundantes (0.031 individuos/m²) en los arrecifes más someros (<10 m), y más abundantes (0.167 ± 0.010 individuos/m²) en los más profundos (<30 m). Estos datos coinciden con las abundancias reportadas por Berin y Callahan (2008) en los arrecifes profundos (25 m) de los cayos de Florida (0.172 individuos/m²), donde se encontraron las mayores abundancias. Aunque no sabemos cuál es la profundidad donde se encuentran las mayores abundancias de *X. muta*, puesto que esta especie logra distribuirse a más de 70 m de profundidad, sólo

podemos concluir de este estudio que su abundancia disminuye en las zonas someras (<10 m) y que está ausente en profundidades menores a los 6 m.

La amplia presencia de *X. muta* a lo largo de toda la zona fótica obliga a las cianobacterias simbiotes a modificar el arreglo y composición de sus antenas fotosintéticas (ficoblisomas, PBS) para ajustar su respuesta fotoaclimatativa a la variación ambiental de luz que existe a lo largo de los gradientes de profundidad. Esta respuesta se encontró entre las esponjas de 17 y 40 m, en las que se observó un cambio indirecto en la composición de los PBS reflejado en los picos de absorción de la ficoeritrina I (PE I) y ficoeritrina II (PE II). Se pudo determinar en las esponjas de 17 m un pico máximo a 550 nm (PE I) y en las esponjas de 40 m un pico máximo a 490 nm (PEII; Fig. 13A). Este ajuste concuerda con la atenuación diferencial de las longitudes de onda del PAR en profundidad de las aguas del Atlántico (Bahamas), donde las longitudes de onda entre 440 y 490 nm son las últimas que se extinguen (Kirk, 2011). El cambio en la proporción relativa de los pigmentos del complejo colector de las cianobacterias según las cualidades de la luz ha sido demostrado previamente en cianobacterias por diversos autores (Bennett y Bogorad, 1973; Tandeau de Marsac, 1977; Wyman y Fay, 1986). Otro tipo de respuesta a la disminución de la luz es el fuerte incremento de la cantidad de pigmentos del tejido como se observó en la zona del atrio (cara interior) y también en las esponjas de 40 m (Fig. 13B).

La combinación de la alta eficiencia de absorción de luz de las cianobacterias, especialmente en la región de la luz azul, que es la última que se extingue en la columna de agua alcanzando los 100 m de profundidad en aguas transparentes, con la especial habilidad del esqueleto de sílice de la esponja para transmitir, esparcir y amplificar localmente la luz, es probable que explique parte del éxito ecológico de *X. muta* para colonizar zonas profundas. La extraordinaria capacidad y eficiencia de absorción de luz del holobionte permite seguir manteniendo actividad fotosintética a grandes profundidades y en la parte interior del atrio de organismos de gran tamaño, lo que puede ser fundamental para mantener una actividad mínima de bombeo de este importante organismo filtrador.

La capacidad de absorción de luz determina la magnitud de la energía lumínica que se incorpora en el aparato fotosintético de un organismo, y que tiene el potencial de ser fijada como energía química orgánica. Por ello, este parámetro permite estimar la dosis de luz absorbida y los límites de tolerancia ambiental del crecimiento y productividad de una determinada especie o población (Cayabyab y Enríquez, 2007). Así mismo, la habilidad para colectar luz y para transformar la energía absorbida en biomasa y crecimiento establecen los

requerimientos mínimos de luz de un organismo (MQR, *minimum quantum requirements*). Este descriptor funcional (MQR) es de enorme importancia para determinar el límite de distribución en profundidad de una especie o morfotipo, y su habilidad para competir exitosamente con otras especies (Cayabyab y Enríquez, 2007; Ralph *et al.*, 2007). Esto es cierto para organismos fotótrofos que dependen completamente de la fotosíntesis para crecer, pero en organismos mixotróficos como lo es *X. muta* no está definido. Por otro lado Otto Warburg en 1923 definió los requerimientos mínimos cuánticos ($1/\Phi_{max}$) de la fotosíntesis como el número mínimo de fotones necesarios para producir una molécula de oxígeno y, de acuerdo con el modelo Z de la fotosíntesis (dos fotosistemas unidos por una cadena de transporte de electrones) este valor teórico mínimo es de 8 fotones, cuatro por cada fotosistema (cof. Govindjee, 1999). De acuerdo a nuestros resultados, *X. muta* presenta una gran eficiencia en la producción de oxígeno por medio de la fotosíntesis ($\Phi_{max} = 0.11$) muy cercana al valor máximo teórico de 0,125 moles de O₂ producidos por mol de fotones absorbido. No sabemos si la actividad fotosintética del holobionte cubre un porcentaje importante de las necesidades tróficas de la esponja, pero al menos es capaz de oxigenar eficientemente el tejido con muy bajos niveles de luz para mantener la actividad mitocondrial de la esponja.

Los resultados obtenidos de ($1/\Phi_{max} = 9.1$) para la cara interna de la esponja, cercanos al mínimo teórico que exige el modelo molecular de la fotosíntesis, muestran la gran eficiencia para utilizar la luz en fotosíntesis que adquieren las cianobacterias en simbiosis con esta esponja. Esto pudiera explicar en parte su gran habilidad de penetración en profundidad, ya que si bien este parámetro no determina los límites de distribución en profundidad, si indica que en las zonas de luz limitante habrá fotosíntesis necesaria al menos, para mantener los niveles de oxígeno de la actividad mitocondrial de los coanocitos. Por otra parte su preferencial adaptación a sombra (ausencia en zonas someras <6 m) tendría que ser explicada por el esparcimiento múltiple y los fuertes niveles de luz que el tejido fotosintético llega a absorber en las zonas más iluminadas.

6.2 Análisis Morfo-funcional de *Xestospongia muta*

Del análisis morfológico se encontró que en general *X. muta* no presenta cambios isométricos entre sus dimensiones verticales (altura) y horizontales (diámetro del ósculo) a lo largo de su crecimiento. Así mismo, al igual que McMurray *et al.* (2008) al analizar los valores de la

pendiente (RMA análisis) entre estas variables, en este estudio se encontró que el diámetro del ósculo cambia más rápidamente que la altura. Estos autores además encontraron que el diámetro del ósculo de *X. muta* crece significativamente más rápido que el diámetro de la base, reflejando de esta manera un cambio de la forma cónica hacia la forma de barril a medida que la esponja crece. Esto fue corroborado en las observaciones de campo, fotografías y a partir de nuestro análisis morfológico. Sin embargo, en este trabajo distinguimos tres morfotipos básicos de *X. muta* a lo largo de su crecimiento, la forma cónica, la de barril y la forma de copa. La forma cónica presente en las esponjas más pequeñas cambia hacia las otras morfologías pudiendo bien quedarse en la forma de barril o cambiando hasta la forma de copa (Fig. 30). Los cambios en la talla y forma de *X.muta* son la expresión combinada del desarrollo ontogenético y del ajuste ambiental del organismo (Niklas, 1994). Las categorías de forma que hemos establecido (los tres morfotipos) son herramientas útiles de clasificación pero corresponden a gradientes continuos de cambio que pueden definir diferentes estadios de crecimiento (i.e. la forma de cono corresponde a un organismo joven), pero también pueden ser resultado de cambios por la presión ambiental (p.ej. disminución de luz en profundidad) que exige diferentes ajustes morfológicos (i.e. forma de barril vs forma de copa; Fig. 30).

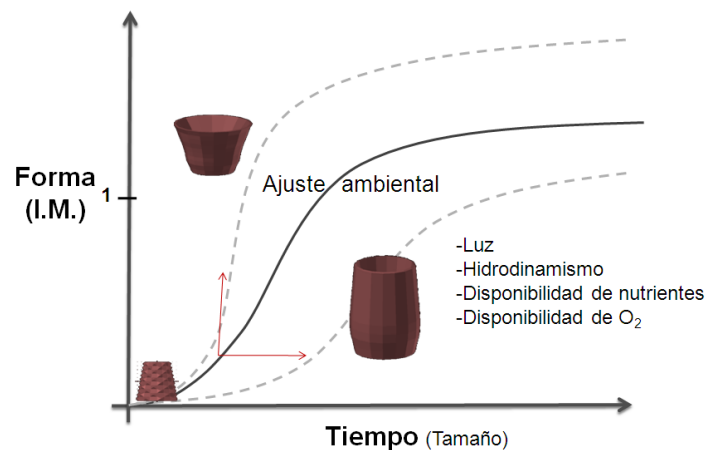


Fig. 30. Modelo de crecimiento de *X. muta*.

Asociado con la profundidad los resultados mostraron que: 1) el diámetro del ósculo fue significativamente mayor en las esponjas profundas que en las someras (<20 m); 2) las esponjas profundas cambian más rápido el diámetro del ósculo con respecto a la altura; y 3) no hay una selección de morfotipo con la profundidad salvo en las esponjas grandes (>48 cm de diámetro del ósculo), las cuales presentan una morfología de barril en los sitios someros

(<20 m) y una morfología de copa en los sitios profundos (>20 m). Estos cambios en la morfología de *X. muta* tienen consecuencias muy importantes sobre la relación superficie-volumen de la esponja y, en consecuencia, sobre la contribución de la fotosíntesis de los simbiontes al balance de carbono del organismo. Sin embargo, y a pesar de esta contribución de la simbiosis, *X. muta* presentó siempre un balance heterotrófico independientemente de su morfología. La forma de barril produjo los balances menos favorables para el cociente heterotrofía/fototrofía, mientras que la forma de copa obtiene los balances más favorables. Por otra parte, los cónulos que se observan en la cara exterior permiten extender fuertemente el área de producción de la simbiosis y disminuir significativamente el balance heterotrofía/fototrofía (Fig. 22). De acuerdo a estas conclusiones, este estudio muestra por primera vez que los cambios morfológicos de los individuos de *X. muta* están modulados en buena parte por la luz para optimizar la fisiología de la simbiosis y la actividad fotosintética en el holobionte.

Sin embargo, no sólo la profundidad y los cambios en la disponibilidad de la luz dominan en los ajustes morfo-funcionales de esta esponja. En este estudio se demuestra que en algunas localidades se favorece el desarrollo de morfologías que permiten un mayor apoyo de la actividad fotosintética en etapas tempranas del crecimiento de la esponja (organismos de tallas pequeñas tiene I.M. >1), mientras que en otras localidades las tallas grandes siguen manteniendo morfologías de barril (I.M. <1) en donde la actividad del tejido fotosintético es menor relativo a la actividad respiratoria de la esponja.).

Que un ambiente favorezca el morfotipo de copa indica que *X. muta* requiere de mayor apoyo de la simbiosis para su crecimiento. En profundidad sólo el tamaño grande es determinante de la selección del morfotipo de copa. En las zonas de cueva o pared donde *X. muta* se encuentra creciendo horizontalmente también existe una selección del morfotipo de copa (Fig. 25). En estos lugares, los beneficios del morfotipo de copa son independientes de la profundidad, pues ocurren a profundidades menores a los 20 m, sin embargo, en esas condiciones la disponibilidad de luz también es limitante.

Considerando que las cianobacterias simbiontes translocan carbono al tejido de *X. muta* (Fiore *et al.*, 2012), nuestros resultados apoyan la interpretación de que los cambios morfológicos están en buena parte promovidos por la luz, al aumentar considerablemente el área de producción fotosintética, ya sea mediante el cambio general de forma o mediante desarrollo de cónulos prominentes en la cara exterior de la esponja. Esto evidencia la alta plasticidad morfológica de *X. muta*, que de acuerdo con Miner *et al.* (2005) provee de uno de

los mecanismos más efectivos que permiten a los organismos sésiles modificar su ambiente. Además, la plasticidad fenotípica es particularmente importante para la sobrevivencia de estos organismos, los cuales no pueden evadir las nuevas condiciones cambiantes mediante el desplazamiento (Sarà y Vacelet, 1973).

Xestospongia muta es un animal que se alimenta por filtración y, por tanto, el hidrodinamismo juega también un papel importante en el ajuste morfo-funcional de esponjas que no se debe ignorar. Carballo *et al.* (2006) determinaron que el hidrodinamismo es el principal factor regulador de la morfología en la simbiosis mutualista de la esponja *Haliclona caerulea* y el alga *Jania adhaerens* en las zona más someras de la bahía de Mazatlán (Pacífico Mexicano). Sin embargo, también quedó demostrado que ambas especies contribuyen a la forma del holobionte (Enríquez *et al.*, 2009) en las zonas más profundas de su distribución, lo que sugiere que la plasticidad morfológica de esponjas con simbiontes fotosintéticos responde a las necesidades de cada una de las especies que lo conforman.

No obstante, mejorar la captura de la luz y producción fotosintética podría ocurrir a costa de su capacidad de alimentación por filtración (Wilkinson, 1992). Sin embargo, como se ha indicado anteriormente, la extraordinaria capacidad y eficiencia de absorción de luz del holobionte permite seguir manteniendo actividad fotosintética a grandes profundidades en la parte interior del atrio de organismos de gran tamaño, lo que puede ser fundamental si no para asegurar las demandas metabólicas del holobionte, sí para aportar el mínimo oxígeno que se necesita para mantener la actividad de bombeo de este importante organismo filtrador de los ecosistemas arrecifales del Caribe.

7 Conclusiones

- El tejido de *X. muta* es un excelente dispersor y conductor de la luz, que genera redes y circuitos de luz, lo que conlleva a una alta eficiencia de absorción de luz de las cianobacterias simbiotes.
- La alta eficiencia con la que absorbe y utiliza la luz esta esponja, explica en parte su menor abundancia en zonas someras, y también su amplia distribución a lo largo de la zona fótica.
- *Xestospongia muta* siempre tiene un balance heterotrófico/Fototrófico mayor a 1, pero la contribución de la simbiosis a su crecimiento y ajuste ambiental se observa en los cambios de forma (barril y copa), ya que afectan fuertemente al balance heterotrofía-fototrofía del organismo.
- Los cónulos de la cara exterior juegan un rol importante para el incremento de la eficiencia de absorción de luz: 1) por favorecer su dispersión por medio del fuerte aumento en grosor de la capa de cianobacterias; y 2) porque permiten extender fuertemente el área de producción de la simbiosis y disminuir significativamente el balance heterotrofía/fototrofía.
- Los cambios morfológicos de *X. muta* están, por tanto, influenciados o promovidos por la luz, pero también por el apoyo que necesite el holobionte del metabolismo fotosintético (fuente de carbono orgánico y/o oxígeno). Este aumento se consigue al aumentar el área del tejido fotosintético en relación al volumen de la esponja, ya sea mediante el cambio general de forma y/o mediante el desarrollo de cónulos prominentes en la cara exterior de la esponja.

8 REFERENCIAS

- Aizenberg, J., Sundar, V.C., Yablon, A.D., Weaver, J.C., Chen, G., 2004. Biological glass fibers: Correlation between optical and structural properties. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101, 3358–3363.
- Bennett, A., and Bogorad, L. 1973. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga *J. Cell Biol.* 58, 419–435
- Bertin, M., y Callahan, M. (2008,). Distribution, abundance and volume of *Xestospongia muta* at selected sites in the Florida Keys National Marine Sanctuary. In *Proc 11th Int Coral Reef Symp* (pp. 686-90).
- Brümmer, F., Pfannkuchen, M., Baltz, A., Hauser, T., y Thiel, V. (2008). Light inside sponges. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 367(2), 61-64.
- Carballo J.L., Cruz-Barraza J.A., Nava H. y Bautista-Guerrero E. 2008. Esponjas perforadoras de sustratos calcáreos. Importancia en los ecosistemas arrecifales del Pacífico este. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). México. 183 p.
- Carballo, J. L., Ávila, E., Enríquez, S. y Camacho, L. 2006. Phenotypic plasticity in a mutualistic association between the sponge *Halicionacaerulea* and the calcareous macroalgae *Jania adhaerens* induced by transplanting experiments. I. Morphological responses of the sponge. *Mar. Biol.* 148:467–78.
- Cayabyab NM, Enríquez S 2007 Leaf photoacclimatory responses of the tropical seagrass *Thalassia testudinum* under mesocosm conditions: a mechanistic scaling-up study. *New Phytol* 176: 108-123.
- Chávez G, J Candela y J Ochoa. 2003. Subinertial flows and transports in Cozumel Channel. *Journal of Geophysical Research.* 108: 1-11.
- Cheshire, A. C., Wilkinson, C. R., Seddon, S., y Westphalen, G. (1997). Bathymetric and seasonal changes in photosynthesis and respiration of the phototrophic sponge *Phyllospongia lamellosa* in comparison with respiration by the heterotrophic sponge *Ianthella basta* on Davies Reef, Great Barrier Reef. *Marine and freshwater research*, 48(7), 589-599.
- Díaz, M. C. y K. Rützler. 2001. Sponges: an essential component of Caribbean coral reefs. *Bulletin of Marine Sciences.* 69: 535-546.
- Dean, Jr W. E. 1974. Determination of carbonate and organic matter in calcareous sediments and sedimentary rocks by loss on ignition: Comparison with other methods. *J. Sediment. Petrol.* 44, 242–248.
- Enríquez, S., Agustí, S. & Duarte C.M. 1992. Light absorption by seagrass *Posidonia oceanica* leaves. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 86:201-204.
- Enríquez, S., Agustí, S. & Duarte C.M. 1994. Light absorption by marine macrophytes. *Oecologia.* 98:121-129.
- Enríquez, S., Duarte C.M., Sand-Jensen, K. & Nielsen, S.L. 1996. Broad-scale comparison of photosynthetic rates across phototrophic organisms. *Oecologia.* 108:197-206.

- Enríquez, S., Merino, M. & Iglesias-Prieto, R. 2002. Variations in the photosynthetic performance along the leaves of the tropical seagrass *Thalassia testudinum*. *Mar. Biol.* 140:891-900.
- Enríquez S y K. Sand-Jensen, 2003. Variation in light absorption properties of *Mentha aquatica* L. as a function of leaf form. Implications for plant growth. *International Journal of Plant Science* 164 (1): 125-136.
- Enriquez S, Mendez ER, Iglesias-Prieto R 2005 Multiple scattering on coral skeletons enhances light absorption by symbiotic algae. *Limnol. Ocean.* 50: 1025-10232.
- Enríquez S, Merino M, Iglesias-Prieto R 2002 Variations in the photosynthetic performance along the leaves of the tropical seagrass *Thalassia testudinum*. *Mar. Biol.* 140: 891-900.
- Enríquez, S., Ávila, E., y Carballo, J. L. 2009. Phenotypic plasticity induced in transplant experiments in a mutualistic association between the red alga *Jania adhaerens* (rhodophyta, corallinales) and the sponge *Halicionacaerulea* (porifera: haplosclerida): morphological responses of the alga. *Journal of phycology*, 45(1), 81-90.
- Erwin, P. M., y Thacker, R. W. 2008. Phototrophic nutrition and symbiont diversity of two Caribbean sponge-cyanobacteria symbioses. *Mar Ecol Prog Ser*, 362, 139-147.
- Falkowski P.G. y Raven J.A 1997 *Aquatic Photosynthesis*. Blackwell Science, Malden, MA. Pp. 375.
- Fiore, C. L., Baker, D. M., y Lesser, M. P. 2013. Nitrogen Biogeochemistry in the Caribbean Sponge, *Xestospongia muta*: A Source or Sink of Dissolved Inorganic Nitrogen?. *PLoS one*, 8(8), e72961.
- Govindjee. 1999. On the requirement of minimum of four versus eight quanta of light for the evolution of one molecule of oxygen in photosynthesis: a historical note. *Photosynthesis Research* 59: 249–254.
- Hooper, J.N.A., and Van Soest, R.W.M. 2002. *Systema Porifera: A Guide to the Classification of Sponges*. New York, NY, USA: Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- Iglesias-Prieto, R., Beltran, V. H., LaJeunesse, T. C., Reyes-Bonilla, H., y Thome, P. E. (2004). Different algal symbionts explain the vertical distribution of dominant reef corals in the eastern Pacific. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences*, 271(1549), 1757-1763.
- Kursar et al., 1983. Light-Harvesting System of the Red Alga *Gracilaria tikvahiae*
- Lesser MP. 2006. Benthic-pelagic coupling on coral reefs: Feeding and growth of Caribbean sponges. *J Exp Mar Biol Ecol* 328: 277–288.
- Kirk. J.T.O. 2011. *Light and photosynthesis in aquatic ecosystems*. Cambridge University Press. Great Britain.
- López Legentil, S., Song, B., McMurray, S. E., y Pawlik, J. R., 2008. Bleaching and stress in coral reef ecosystems: hsp70 expression by the giant barrel sponge *Xestospongia muta*. *Molecular ecology*, 17(7), 1840-1849.
- McMurray, S. E., Blum, J. E., and Pawlik, J. R. 2008. Redwood of the reef: Growth and age of the giant barrel sponge *Xestospongia muta* in the Florida Keys. *Marine Biology* 155, 159–171.
- Miner, B. G., Sultan, S. E., Morgan, S. G., Padilla, D. K. y Relyea, R. A. 2005. Ecological consequences of phenotypic plasticity. *TREE* 20:685–92..

- Morel, A. y Bricaud, A. 1981. Theoretical results concerning light absorption in a discrete medium, and application to specific absorption of phytoplankton. *Deep-Sea Research*. 28A(11):1375-1393
- Muckelbauer G. 1990. The shelf of Cozumel, México: topography and organisms. *Facies*. 23: 185-240.
- Muscantine L, y Weis V (1992) Productivity of zooxanthellae and biogeochemical cycles. In: Falkowski PG, Woodhead AD (eds) Primary productivity and biogeochemical cycles in the sea. (Environmental Science Research 43) Plenum Press, New York, pp 257–271.
- Nagelkerken, I., Aerts, L., and Pors, L. (2000) Barrel sponge bows out. In *Reef Encounter*. Kansas, USA: International Society for Reef Studies, pp. 14–15.
- Niklas 1994. *Plant Allometry: The scaling of form and process*. University of Chicago. Press USA. Pp 395.
- Odling-Smee, F. J., Laland, K. N. y Feldman, M. W. 1996. Niche construction. *Am. Nat.* 147:641–8.
- Pérez-Castro M.A. 2010. Análisis del efecto de la morfología foliar sobre la eficiencia de absorción de luz de las hojas del pasto marino *Syringodium filiforme*. Tesis de licenciatura. Universidad del Mar.
- Ralph P.J., Durako M.J., Enríquez S., Collier C.J., and Doblin M.A. 2007. Impact of light limitation on seagrasses. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 350: 176-193. Special volumen: Issues 1-2 The Biology and Ecology of seagrasses Ed. B.W. Touchette.
- Rützler K (1990) Associations between Caribbean sponges and photosynthetic organisms. In: Rützler K (ed) *New perspectives in sponge biology*. Smithsonian Institution Press, Washington, DC, p 455–466
- Sara, M., G. Bavecchello, R. Cattaneo-Vietti, and C. Cerrano. 1998. Endosymbiosis in sponges: relevance for epigenesis and evolution. *Symbiosis* 25:57–70.
- Steindler L, Huchon D, Avni A, Ilan M (2005) 16S rRNA Phylogeny of Sponge- Associated Cyanobacteria. *Appl Environ Microbiol* 71: 4127–4131.
- Suárez-Morales, E., y Rivera-Arriaga, E. (1998). Zooplancton e hidrodinámica en zonas litorales y arrecifales de Quintana Roo, México. *Hidrobiológica*, 8(1), 19-32.
- Taylor M. W., Radax R., Steger D., Wagner M. 2007. Sponge-Associated Microorganisms: Evolution, Ecology, and Biotechnological Potential. *Microbiol Mol Biol Rev.* 71 (2):295-247.
- Unson, M.D., Holland, N.D., Faulkner, D.J., 1994. A brominated secondary metabolite synthesized by the cyanobacterial symbiont of a marine sponge and accumulation of the crystalline metabolite in the sponge tissue. *Mar. Biol.* 119, 1–11.
- Usher, K. M. (2008). The ecology and phylogeny of cyanobacterial symbionts in sponges. *Marine Ecology*, 29(2), 178-192.
- Venn, A. A., Loram, J. E., y Douglas, A. E. (2008). Photosynthetic symbioses in animals. *Journal of experimental botany*, 59(5), 1069-1080.
- Wilkinson C.R. (1983) Net primary productivity in coral reef sponges. *Science*, 219, 410–412.
- Wilkinson C.R., Trott L.A. (1985) Light as a factor determining the distribution of sponges across the central Great Barrier Reef. *Proceedings of the 5th International Coral Reef Congress*, 5, 125–130

- Wilkinson, C. R. (1979). Nutrient translocation from symbiotic cyanobacteria to coral reef sponges. *Biologie des spongiaires*, 291, 373-380.
- Wilkinson, C. R. 1984. Immunological evidence for the Precambrian origin of bacterial symbioses in marine sponges. *Proc. R. Soc. Lond. B* 220:509– 517.
- Wilkinson, C.R. (1978) Microbial associations in sponges. I. Ecology, physiology and microbial populations of coral reef sponges. *Mar Biol* 49: 161–167.
- Wilkinson, C.R., Fay, P., 1979. Nitrogen fixation in coral reef sponges with symbiotic cyanobacteria. *Nature* 279, 527–529.
- Wyman M., Fay P. (1986) Underwater light climate and the growth and pigmentation of planktonic blue-green algae (Cyanobacteria) I. The influence of light quality. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B*, 227, 367–380.

ANEXO I

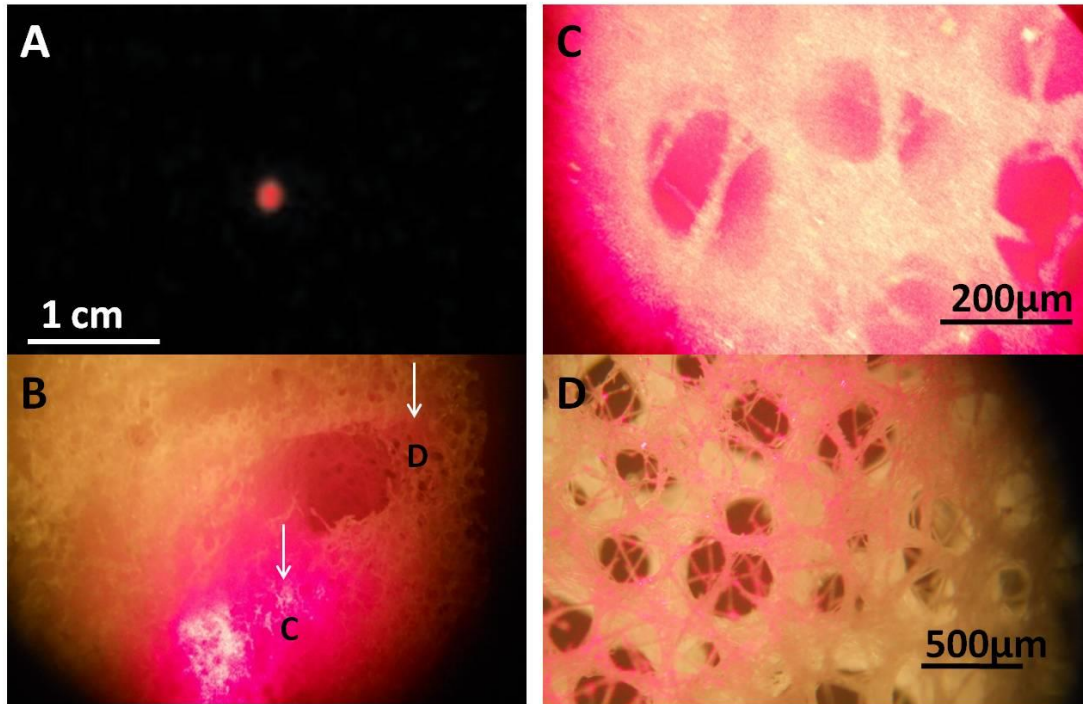


Fig. 31. Experimento realizado con láser sobre el tejido fotosintético de *X. muta*. A) Tamaño del puntero del láser en una superficie negra y B- D) Fotografías mostrando la dispersión múltiple de la luz causada por el esqueleto de *X. muta*. C y D) Observaciones en el microscopio estereoscópico a 1 y 2.5 cm aproximados del punto incidente.

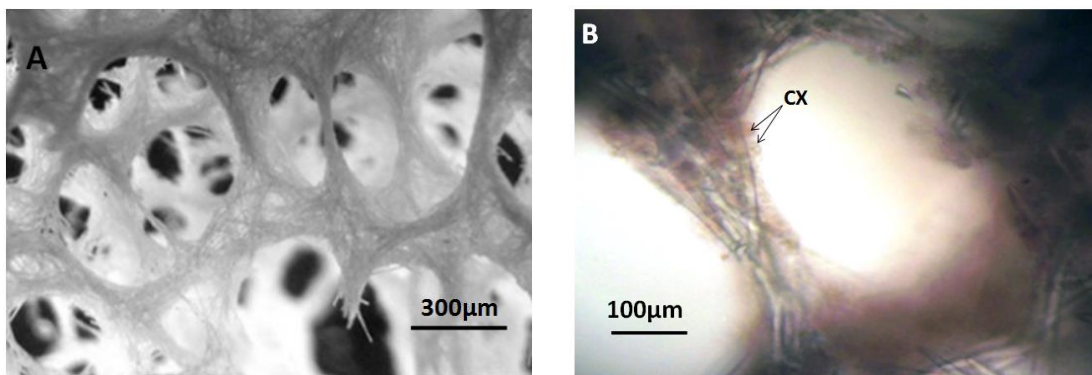


Fig. 32. Tejido fotosintético de *X. muta*. A) Arreglo de las espículas del esqueleto y B) Cianobacterias inmersas en las células de *X. muta* (CX).

ANEXO II

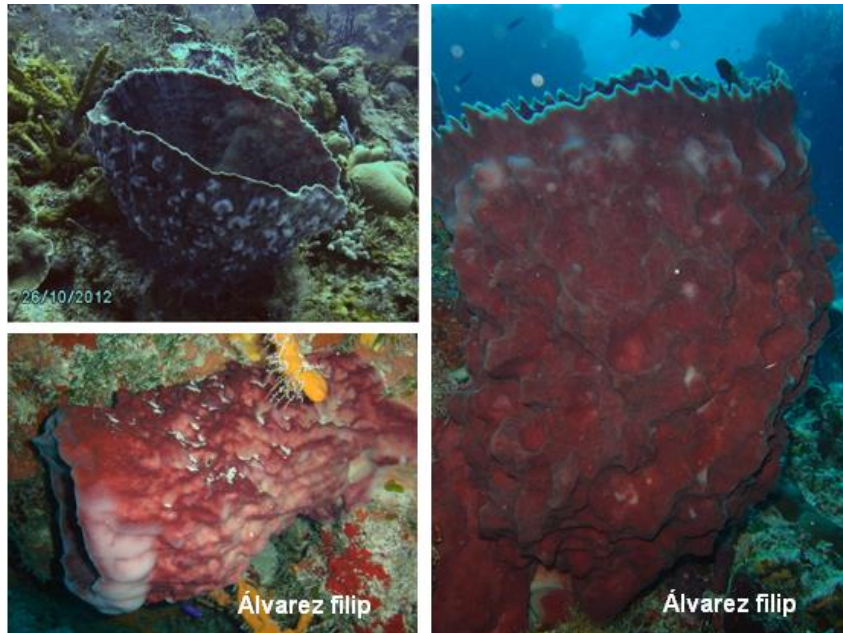


Fig. 33. Fotografías de *X. muta* con diferentes grados de blanqueamiento (la zona de cónulos suele ser la más afectada)



Fig. 34. Fotografías tejidos sanos y blanqueados de *X. muta*

ANEXO III

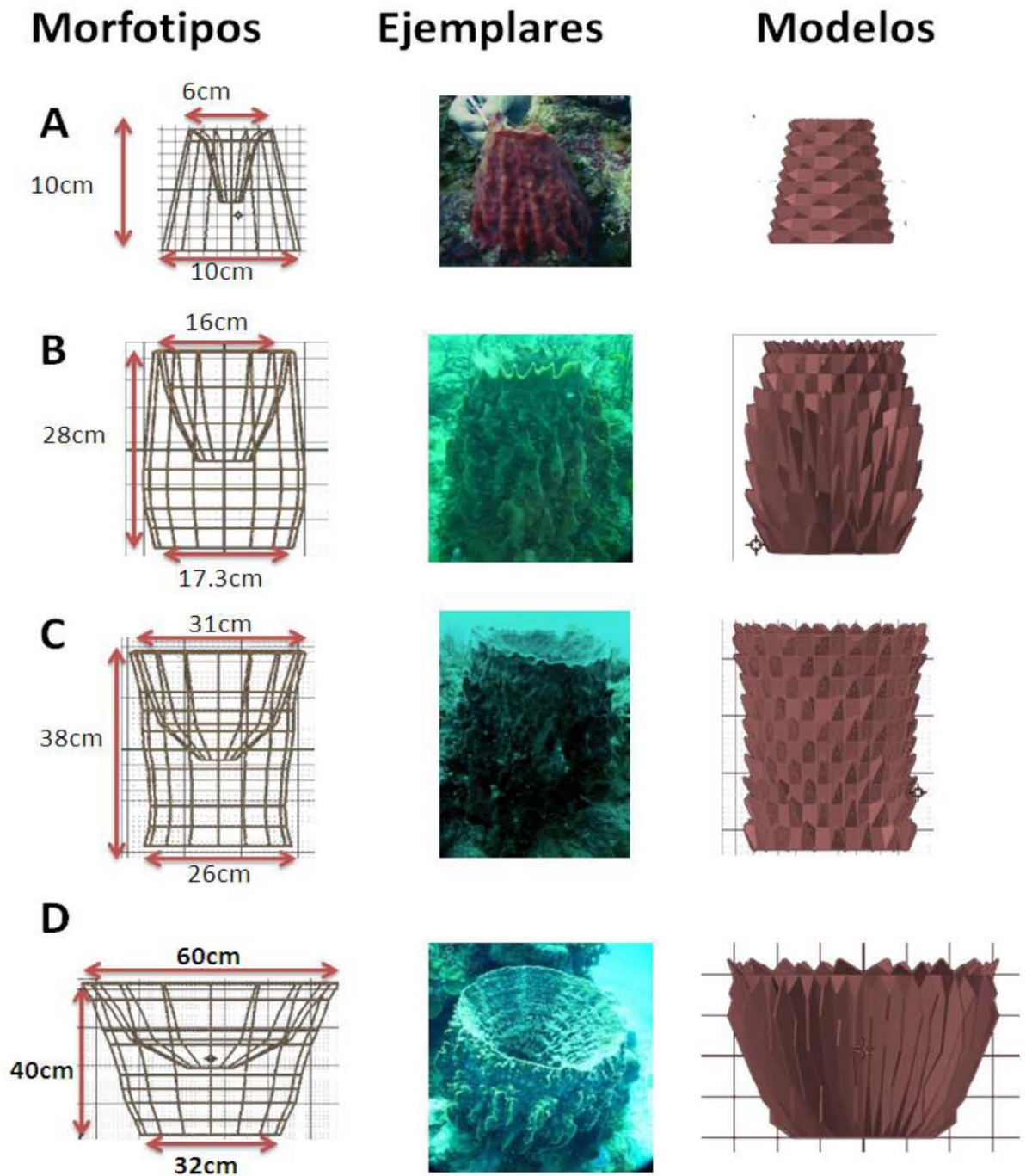
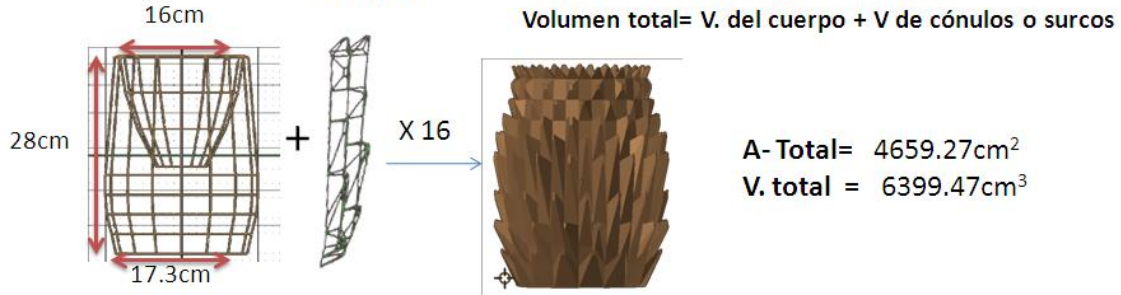


Fig. 35. Morfotipos con sus respectivos ejemplares en fotografía y modelos tridimensionales.

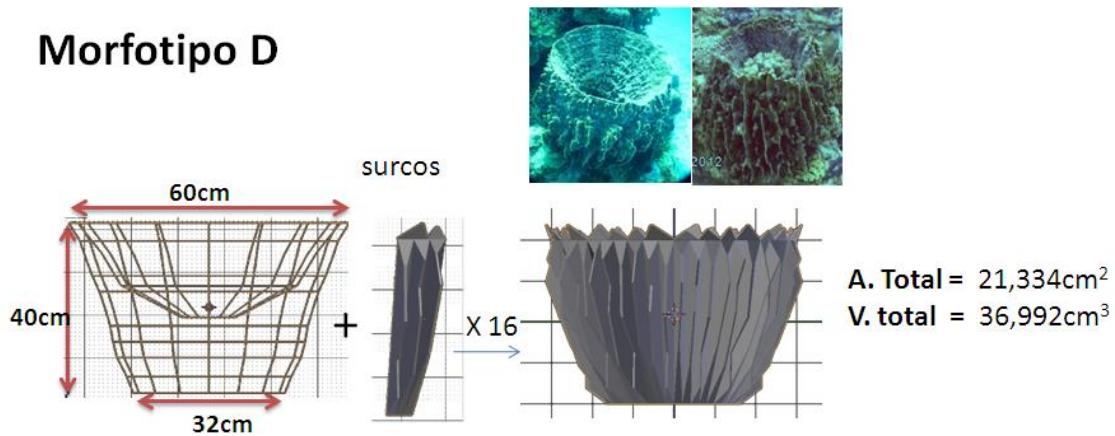
Morfotipo B



Área ext. = 1691.74cm²
Área int. = 679.273cm²
V. del cuerpo = 5699.15 cm³

$A = 206\text{cm}^2 \times 16 = \text{Área real externa (3980 cm}^2\text{)}$
 $V = 43\text{cm}^3 \times 16 = \text{Volumen de cónulos totales (700.32cm}^3\text{)}$

Morfotipo D



Área ext. = 6,135.212 cm²
Área int. = 4,406.6 cm²
V. del cuerpo = 28,575.74 cm³

$A = 1,057.96\text{ cm}^2 \times 16 = \text{Área real externa (16,927.36 cm}^2\text{)}$
 $V = 526.02\text{cm}^3 \times 16 = \text{Volumen de surcos (8416.27cm}^3\text{)}$

Fig. 36. Forma de cálculo del área y volumen del organismo entero, en morfotipo B y D.